

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

ÉTUDE DE LA RÉACTIVITÉ DES VOIES RESPIRATOIRES DE SOURIS

par

MARTIN RICHTER

Faculté de Médecine
Département de Pharmacologie

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès Sciences
(M.Sc.)

Janvier 1998



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-40618-0

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	VIII
LISTE DES FIGURES	X
LISTE DES TABLEAUX.....	XIV
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	XV
INTRODUCTION.....	1
1.1 HISTORIQUE DES EICOSANOÏDES	2
1.1.1 <i>Les prostaglandines et thromboxanes</i>	2
1.1.2 <i>Les leucotriènes</i>	5
1.2 MÉTABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE	8
1.2.1 <i>Voie de la cyclooxygénase</i>	8
1.2.2 <i>Voie de la lipoxygénase</i>	16
1.3 PHARMACOLOGIE DES EICOSANOÏDES.....	22
1.3.1 <i>Les prostaglandines et le thromboxane</i>	22
1.3.2 <i>Les leucotriènes</i>	29
1.4 LES NEUROMÉDIATEURS	31
1.4.1 <i>L'acétylcholine et ses dérivés</i>	31
1.4.2 <i>La sérotonine (5-hydroxytryptamine)</i>	33
1.5 PEPTIDES BIOACTIFS.....	35

1.5.1	<i>La vasopressine</i>	35
1.5.2	<i>Le polypeptide vasoactif intestinal (VIP)</i>	36
1.5.3	<i>Les endothélines</i>	37
1.6	MODÈLE D'HYPERREACTIVITÉ PULMONAIRE	38
1.6.1	<i>L'inflammation</i>	38
1.6.2	<i>Cellules inflammatoires</i>	39
1.6.3	<i>Aspect immunologique</i>	41
	MATÉRIEL ET MÉTHODES	44
2.1	PRÉPARATIONS TISSULAIRES	44
2.1.1	<i>Anneaux de trachées et de bronches supérieures et inférieures</i>	47
2.1.2	<i>Bandelettes de parenchyme pulmonaire</i>	50
2.2	SYSTÈME DE SUPERFUSION EN CASCADE	50
2.3	SYSTÈME DE BAINS CLASSIQUES	53
2.4	PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL POUR LES EXPÉRIENCES <i>IN VITRO</i>	54
2.5	MODÈLE D'HYPERREACTIVITÉ PULMONAIRE <i>IN VIVO</i>	55
2.5.1	<i>Sensibilisation des souris</i>	55
2.5.2	<i>Bronchoprovocation des souris sensibilisées</i>	56
2.5.3	<i>Chirurgies et canulations</i>	56
2.6	PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL POUR LES EXPÉRIENCES <i>IN VIVO</i>	60
2.7	SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES UTILISÉES	60
2.8	STATISTIQUES	62

RÉSULTATS.....	73
3.1 COMPARAISON DE LA RÉACTIVITÉ DES TISSUS PULMONAIRES DE SOURIS.....	73
3.2 EFFETS DES NEUROMÉDIATEURS SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS.....	76
3.2.1 <i>Effet myotrope du carbachol sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.....</i>	76
3.2.2 <i>Effet myotrope de la sérotonine sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.....</i>	80
3.2.3 <i>Effet myotrope de l'acétylcholine sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.....</i>	80
3.2.4 <i>Comparaison des effets myotropes des neuromédiateurs sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.</i>	83
3.3 EFFETS DES PROSTANOÏDES SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS.....	87
3.3.1 <i>Effets myotrope du composé U-44069 (analogue du thromboxane A₂) sur la trachée, les bronches externes et internes et le parenchyme pulmonaire de souris.....</i>	87
3.3.2 <i>Effets relaxants de la prostaglandine E₂ sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris.....</i>	92

3.3.3 Effets relaxants de la prostaglandine D_2 sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris.....	98
3.3.4 Effets relaxants de la prostaglandine $F_{2\alpha}$ sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris.....	101
3.3.5 Effets des prostaglandines (PGD_2 , $PGF_{2\alpha}$ et PGI_2) chez différentes souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6, C3H)	102
3.3.6 Comparaison des effets des prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ au niveau des tissus pulmonaires isolés de souris.....	105
3.4 EFFETS DES LEUCOTRIÈNES SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS.....	112
3.5 EFFETS DES PEPTIDES BIOACTIFS SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS.....	115
3.5.1 Effets myotropes de l'arginine-vasopressine (AVP) sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris.....	115
3.5.2 Effet du polypeptide vasoactif intestinal (VIP) sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris.....	115
3.5.3 Effet des endothélines -1, -2 et -3 sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris	118
3.6 ÉTUDE DES RELAXATIONS INDUITES PAR PGE_2 , PGD_2 ET $PGF_{2\alpha}$ SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS	119
3.6.1 Effet de l'indométacine sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $PGF_{2\alpha}$	122

3.6.2 Effet du naproxène sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $PGF_{2\alpha}$	123
3.6.3 Effet de l'antagoniste du récepteur EP_4 de la prostaglandine E_2 sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $PGF_{2\alpha}$	123
3.6.4 Effet de l'inhibiteur de la synthase de l'oxyde nitrique (NOS) L-NAME sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ sur les tissus pulmonaires isolés de souris.....	128
3.6.5 Effet de la polyphlorétine phosphatée sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ sur la trachée et les tissus pulmonaires isolés de souris	131
3.7 HYPERRÉACTIVITÉ PULMONAIRE AU CARBACHOL IN VIVO INDUITE PAR L'OVALBUMINE CHEZ LA SOURIS BALB/C SENSIBILISÉE.....	134
3.7.1 Effet de l'antagoniste des récepteurs du thromboxane A_2 L-654,664 sur l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées.....	141
3.7.2 Effet de l'antagoniste du facteur d'activation plaquettaire CV 3988 sur l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées.....	144
3.7.3 Effet d'une injection intraveineuse d'un analogue du thromboxane A_2 (U-44069) chez les souris BALB/c naïves	147
3.7.5 Effet protecteur de l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 et de l'antagoniste du PAF CV 3988.....	150
DISCUSSION	151

4.1	RÉACTIVITÉ DES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS AUX EICOSANOÏDES, AUX NEUROMÉDIATEURS ET AUX PEPTIDES BIOACTIFS	155
4.2	MODÈLE D'HYPERRÉACTIVITÉ PULMONAIRE IN VIVO CHEZ LA SOURIS.....	166
	CONCLUSIONS	173
	REMERCIEMENTS	177
	BIBLIOGRAPHIE.....	178

RÉSUMÉ

Université de Sherbrooke

ÉTUDE DE LA RÉACTIVITÉ DES VOIES RESPIRATOIRES DE SOURIS

par

MARTIN RICHTER

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès Sciences (M.Sc.)

La trachée (T), les bronches supérieures (BS), les bronches inférieures (BI) et le parenchyme pulmonaire (PP) de souris sont des préparations qui répondent de façon spécifique à des neuromédiateurs, à des prostanoïdes et à des peptides bioactifs. Les contractions de ces tissus sont, de façon générale, plus élevées sur les voies respiratoires supérieures (T et BS) et moindres au niveau des voies respiratoires inférieures (BI et PP), selon l'ordre suivant : $T \geq BS > BI > PP$. En moyenne, l'ordre de puissance des agonistes contractiles au niveau des voies respiratoires isolées de souris est vasopressine $>$ TXA_2 (U-44069) $>$ Cch $>$ 5-HT $>$ Ach. Par contre, l'ordre d'efficacité de ces agonistes contractiles diffère de l'ordre de puissance : Ach $>$ vasopressine $>$ Cch $>$ 5-HT $>$ TXA_2 (U-44069).

Sur les voies respiratoires de souris, les prostaglandines (PG) induisent des relaxations lorsque les tissus sont précontractés avec un spasmogène (Cch, 15 et 30 ng/ml sur la trachée et les bronches respectivement). Ces relaxations sont dépendantes de la dose et atteignent des valeurs jusqu'à 97 % de la précontraction selon le tissu et la PG utilisés. Le VIP est le seul peptide bioactif étudié qui induit des relaxations sur la trachée et les bronches de souris. Les relaxations à ce peptide sont dépendantes de la dose et atteignent des valeurs de 91 % de la précontraction. L'ordre de puissance de ces agonistes relaxants au niveau des voies respiratoires isolées de souris est $PGE_2 > PGF_{2\alpha} > PGD_2 = VIP$ au niveau de la T et des BS et $PGF_{2\alpha} \geq PGE_2 \approx VIP > PGD_2$ sur les BI. Les inhibiteurs de la cyclooxygénase indométacine (1×10^{-6} M) et naproxène (1×10^{-6} M) inhibent les relaxations induites par les PGs D_2 et $F_{2\alpha}$. De plus, les relaxations induites par ces deux PGs sont diminuées par la polyphlorétine phosphatée (20 µg/ml) et inhibées par le composé AH 23848B (100 µM). Le L-NAME (1×10^{-3} M) n'affecte pas les relaxations aux PGs. D'autre part, l'effet relaxant des PGs est observé chez les voies respiratoires isolées de plusieurs souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H).

Les leucotriènes sont à peu près inactifs sur les préparations tissulaires des voies respiratoires de souris. Seul le leucotriène C_4 a suscité de faibles contractions de la T et des BS. De plus, ces contractions étaient tachyphylactiques.

Une hyperréactivité pulmonaire significative *in vivo* est induite par l'exposition des souris à l'ovalbumine sur une période de 12 jours. Cette hyperréactivité est bloquée en partie par le composé L-654,664 (antagoniste du TXA_2) et complètement bloquée par le composé CV 3988 (antagoniste du PAF). Le traitement des SS avec ces antagonistes les

protège contre la mort induite par la bronchoconstriction sévère observée chez les SS n'ayant reçu aucun traitement.

En conclusion, nos résultats démontrent que l'utilisation de la souris comme modèle pour l'étude de l'asthme est un modèle valide, mais ayant toutefois certaines différences avec la pathologie chez l'homme. Les tissus pulmonaires répondent de façon spécifique à plusieurs médiateurs *in vitro*. De plus, les relaxations induites par les PGs D_2 et $F_{2\alpha}$ sont médiées par la relâche d'un prostanoïde endogène, possiblement PGE_2 via les récepteurs EP_4 . L'effet relaxant des PGs n'est pas dépendant de la souche de souris. Par ailleurs, un modèle d'hyperréactivité pulmonaire allergique présentant certaines caractéristiques importantes de l'asthme incluant l'infiltration cellulaire au niveau pulmonaire (principalement éosinophiles) et l'hyperréactivité du système respiratoire a pu être développé. Nos résultats démontrent que le PAF aurait un rôle d'importance majeure dans le développement de l'hyperréactivité bronchique, tandis que le TXA_2 aurait un rôle secondaire.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Activité de la cyclooxygénase	10
Figure 2 :	Catabolisme de l'acide arachidonique et biosynthèse des prostaglandines E ₂ , D ₂ et F _{2α}	12
Figure 3 :	Catabolisme de l'acide arachidonique et biosynthèse de la prostaglandines I ₂ et des thromboxanes.....	14
Figure 4 :	Sites d'action des phospholipases	17
Figure 5 :	Activité de la lipoxygénase en C ₅	20
Figure 6 :	Catabolisme de l'acide arachidonique et biosynthèse des leucotriènes.....	23
Figure 7 :	Préparation des tissus pulmonaires de souris	45
Figure 8 :	Installation des tissus préparés en anneaux sur des supports métalliques de forme triangulaire (« crochets »).....	48
Figure 9 :	Le système de superfusion en cascade	51
Figure 10 :	Le système de mesure <i>in vivo</i>	58
Figure 11 :	Structures moléculaires des neuromédiateurs carbachol, acétylcholine et sérotonine.....	63
Figure 12 :	Structures moléculaires des peptides bioactifs vasopressine, polypeptide vasoactif intestinal (VIP) et endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3).....	65
Figure 13 :	Structures moléculaires des prostanoïdes et de l'analogue du thromboxane A ₂ le composé U-44069, la prostaglandine E ₂ , la prostaglandine D ₂ et la prostaglandine F _{2α}	67

Figure 14 :	Structures moléculaires des leucotriènes A ₄ , B ₄ , C ₄ , D ₄ et E ₄	69
Figure 15 :	Structures moléculaires des antagonistes et inhibiteurs : l'indométacine, le naproxène, le composé L-654,664 et le composé CV 3988.....	71
Figure 16 :	Comparaison de la réactivité des tissus pulmonaires isolés de souris à deux agonistes contractiles (carbachol et sérotonine)	74
Figure 17 :	Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris au carbachol	78
Figure 18 :	Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à la sérotonine	81
Figure 19 :	Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à l'acétylcholine.....	84
Figure 20 :	Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris au composé U-44069	88
Figure 21 :	Tracé-type des contractions observées suite aux injections de l'analogue du thromboxane A ₂ U-44069 aux doses de 1 µg à 10 µg	90
Figure 22 :	Relaxations de la trachée de souris précontractée avec le carbachol suite aux injections des prostaglandines E ₂ , D ₂ et F _{2α}	93
Figure 23 :	Relaxations des bronches supérieures de souris précontractées avec le carbachol suite aux injections des prostaglandines E ₂ , D ₂ et F _{2α}	96
Figure 24 :	Relaxations des bronches inférieures de souris précontractées avec le carbachol suite aux injections des prostaglandines E ₂ , D ₂ et F _{2α}	99
Figure 25 :	Relaxations de la trachée de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractée au carbachol suite aux injections des prostaglandines E ₂ , D ₂ et F _{2α} et de l'iloprost	103

Figure 26 :	Relaxations des bronches supérieures de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractées au carbachol suite aux injections des prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ et de l'iloprost.....	106
Figure 27 :	Relaxations des bronches inférieures de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractées au carbachol suite aux injections des prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ et de l'iloprost	109
Figure 28 :	Tracé-type des réponses contractiles de la trachée et des bronches supérieures à des injections bolus de leucotriène C_4	113
Figure 29 :	Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à la vasopressine	116
Figure 30 :	Relaxations des tissus pulmonaires isolés de souris précontractées avec le carbachol suite aux injections du polypeptide vasoactif intestinal (VIP)	119
Figure 31 :	Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la cyclooxygénase indométacine sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol	124
Figure 32 :	Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la cyclooxygénase naproxène sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol.....	126
Figure 33 :	Tracés-types de l'effet de l'antagoniste des récepteurs EP_4 sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol.....	129

Figure 34 :	Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la synthèse de l'oxyde nitrique L-NAME sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol	132
Figure 35 :	Relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées avec le carbachol suite aux injections de prostaglandine D_2 , $F_{2\alpha}$ et E_2 en absence et en présence de polyphlorétine phosphatée.....	135
Figure 36 :	Tracé-type de la pression d'insufflation pulmonaire chez la souris BALB/c sensibilisée et exposée à l'ovalbumine et chez la souris BALB/c témoin	137
Figure 37 :	Hyperréactivité pulmonaire chez les souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine.....	139
Figure 38 :	Effet de l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 sur l'hyperréactivité pulmonaire des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine.....	142
Figure 39 :	Effet de l'antagoniste du facteur d'activation plaquettaire (PAF) CV 3988 sur l'hyperréactivité pulmonaire des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine.....	145
Figure 40 :	Hyperréactivité pulmonaire chez la souris naïve suite au traitement intraveineux avec l'analogue du thromboxane A_2 U-44069.....	148
Figure 41 :	Taux de survie des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine suite aux différents traitements	151

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : ED_{50} et E_{max} pour les neuromédiateurs sur les voies respiratoires isolées de souris.....	86
Tableau II : ED_{50} et E_{max} pour les prostanoïdes sur les voies respiratoires isolées de souris.....	111
Tableau III : ED_{50} et E_{max} pour les peptides bioactifs sur les voies respiratoires isolées de souris.....	121

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

5-HT	Sérotonine
Ach	Acétylcholine
AVP	Arginine-vasopressine
BI	Bronches inférieures
BS	Bronches supérieures
Cch	Carbachol
ET	Endothéline
L-NAME	L-nitro arginine methyl ester
LT	Leucotriène
OVA	Ovalbumine
PG	Prostaglandine
PP	Parenchyme pulmonaire
PPP	Polyphlorétine phosphatée
T	Trachée
TXA ₂	Thromboxane A ₂
VIP	Polypeptide vasoactif intestinal

INTRODUCTION

Durant la dernière décennie, notre compréhension de l'asthme a évolué d'une maladie des nerfs et des muscles lisses à une condition d'inflammation des voies respiratoires. De façon coïncidente avec cette évolution, a été l'émergence de la compréhension que les eicosanoïdes ont un rôle essentiel comme médiateurs de l'inflammation dans la promotion et la modulation de certains changements retrouvés dans l'asthme.

Cette maladie est caractérisée par des épisodes de bronchoconstriction, par l'obstruction des bronches, causant une résistance au passage de l'air, par l'hyperréactivité bronchique non-spécifique et par la migration cellulaire au niveau des voies respiratoires (Dukjanovic *et al.*, 1994). Les causes fondamentales et les mécanismes exacts sous-jacents à l'asthme sont encore inconnus. Il existe plusieurs facteurs qui peuvent déclencher une réaction anormale de l'arbre trachéo-bronchique chez les asthmatiques, par exemple, l'exposition à un allergène (pouvant entraîner une réaction allergique atopique), l'infection ou même l'exercice.

La bronchoconstriction peut être médiée par plusieurs substances dont les plus importantes sont l'acétylcholine (réflexe vagal), l'histamine (mastocytes) et les leucotriènes. Ces derniers font partie d'un groupe de métabolites dérivés de l'acide arachidonique par la voie de la 5-lipoxgénase. L'acide arachidonique peut aussi être métabolisé par la voie de la cyclooxygénase donnant les prostaglandines. Ces médiateurs relâchés au niveau des poumons sembleraient être des facteurs importants dans la bronchoconstriction associée à la crise d'asthme et aux changements physiopathologiques

observés chez les asthmatiques. Les propriétés myotropes et inflammatoires de ces molécules ont suscité beaucoup d'intérêt au niveau des études portant sur les mécanismes physiopathologiques de l'asthme et de l'inflammation.

Durant les vingt dernières années, l'immunologie de la souris a été étudiée de façon très approfondie. Les nombreuses découvertes ont permis l'identification de plusieurs molécules et la compréhension de plusieurs mécanismes impliqués dans différentes maladies. Plus récemment, l'aspect génétique de la souris a été étudié et développé permettant, à l'heure actuelle, la production de souris déficientes en certains gènes (souris « knock-out » ou « knock-down »). Étant donné le vaste potentiel du modèle murin, notre étude avait pour buts l'évaluation des effets, *in vitro*, de plusieurs médiateurs (neuromédiateurs, eicosanoïdes et peptides bioactifs) au niveau des voies respiratoires isolées de la souris ainsi que l'évaluation de leur puissance relative et, le développement et la caractérisation d'un modèle d'hyperréactivité pulmonaire *in vivo* chez la souris.

1.1 HISTORIQUE DES EICOSANOÏDES

1.1.1 Les prostaglandines et thromboxanes

En étudiant les effets du liquide séminal humain sur le muscle utérin Kurzrok et Lieb (1930) ont observé des réponses contractiles ou relaxantes. Par la suite, une substance ayant une activité stimulante sur les muscles lisses des glandes génitales accessoires contenue dans le liquide séminal humain a été décrite par Goldblatt (1933) et Von Euler (1934). Von Euler (1935, 1936) observait que l'administration intraveineuse de liquide séminal humain à des lapins causait une hypotension. Ce dernier introduit le nom « prostaglandine » pour cette substance en 1935 pensant que son lieu de synthèse était la

prostate. De plus, il démontre que des extraits acides liposolubles de liquide séminal de singe et de chèvre possèdent également les propriétés stimulantes sur les muscles lisses et vasodépressives (Von Euler ; 1935, 1936). Les premières prostaglandines (PGs), PGE_1 et $\text{PGF}_{1\alpha}$, ont été isolées par Bergstrom et Sjovall en 1957, mais ce n'est qu'au début des années soixante que les premières fractions contenant des prostaglandines (PGE_1 , PGF_1 et $\text{PGF}_{2\alpha}$) pures ont été obtenues à partir de prostates de moutons. Ces prostaglandines ont été purifiées par chromatographie en phase gazeuse et identifiées par spectrométrie de masse (Bergstrom et Sjovall, 1960a,b ; Bergstrom *et al.*, 1962a). Il a ensuite été établi que les prostaglandines étaient biosynthétisées à partir d'acides gras polyinsaturés (Bergstrom *et al.*, 1964 ; Van Drop *et al.*, 1964). Dans cette catégorie d'acides gras sont compris l'acide dihomog- γ -linoléique ($\text{C}_{20:3\omega 6}$), l'acide arachidonique ($\text{C}_{20:4\omega 6}$) et l'acide eicosapentaénoïque ($\text{C}_{20:5\omega 6}$). Lorsque ceux-ci sont métabolisés, ils donnent respectivement des prostaglandines et thromboxanes possédant un, deux et trois doubles liaisons. Chez l'homme, l'acide arachidonique est le précurseur le plus important. Cet acide gras insaturé fait partie des phospholipides membranaires (phosphatidylcholine) et est généralement estérifié en position β sur le glycérol (Ramwell *et al.*, 1977 ; Blackwell et Flower, 1983).

Bergstrom *et al.* (1962b) et Anggard et Samuelsson (1965) identifient, au niveau pulmonaire, les prostaglandines E_2 et $\text{F}_{2\alpha}$. Une bronchodilatation est induite par la prostaglandine E_2 tandis qu'une bronchoconstriction est induite par la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$ (Main, 1964 ; Sweatman et Collier, 1968).

Un élément important dans la compréhension du rôle physiologique des prostaglandines est mis en évidence en 1971 par Vane et d'autres chercheurs. Ils

démontrent qu'il était possible d'inhiber la cyclooxygénase, enzyme qui métabolise l'acide arachidonique en prostaglandines, avec des anti-inflammatoires non-stéroïdiens, tels l'aspirine et l'indométacine (Ferreira *et al.*, 1971 ; Smith et Willis, 1971 ; Vane, 1971). Ceci a permis de comprendre le mécanisme d'action de ces composés et a aussi donné un outil important pour l'étude des mécanismes associés aux prostanoïdes. De plus, Vane démontre qu'il existe une corrélation entre l'activité anti-inflammatoire des anti-inflammatoires non-stéroïdiens et leur puissance comme inhibiteurs de la cyclooxygénase. Piper et Vane (1969) observent la libération d'une substance spasmogène labile provenant des poumons de cobayes sensibilisés. Cette substance avait une activité contractile sur l'aorte de lapin et ils l'appelèrent donc « rabbit aorta contracting substance » (RCS). Une purification partielle de ce facteur suggérait que ce serait un peptide et que son activité serait bloquée par des anti-inflammatoires stéroïdiens et non-stéroïdiens (Nijkamp *et al.*, 1976). Des études subséquentes ont montré que les effets du RCS étaient dus aux endopéroxydes (PGG₂ et PGH₂) et au thromboxane A₂ (Hamberg *et al.*, 1976).

En effet, ce fut presque une décennie après la purification des premières prostaglandines que deux endopéroxydes instables (PGG₂ et PGH₂) ont été identifiés comme étant des intermédiaires entre l'acide arachidonique et les prostaglandines (Lee *et al.*, 1975 ; Kaplan *et al.*, 1975). L'incubation de ces deux endopéroxydes avec des plaquettes humaines mène presque exclusivement à deux produits : l'acide 12L-hydroxy-5,10-heptadecadiénoïque (HHT), un hydroxy acide en C17 formé à partir des endopéroxydes par la perte de malondialdéhyde et le dérivé hémicétal de l'acide 8-(1-hydroxy-3-oxopropyl)-9,12L-dihydroxy-5,10-heptaénoïque, un composé initialement appelé PHD qui a par la suite été nommé thromboxane (TX)B₂. Hamberg *et al.* (1975) ont

subséquentement démontré qu'il existait un intermédiaire très instable et très actif biologiquement dans la conversion métabolique du $\text{PGG}_2/\text{PGH}_2$ en TXB_2 . Cet intermédiaire avait une demi-vie très courte ($t_{1/2}$, 32 sec.) et a été nommé thromboxane A_2 (TXA_2).

La disponibilité des endoperoxydes et l'identification du TXA_2 ont mené à la découverte de la plus récente prostaglandine, la PGX , maintenant appelée prostacycline ou PGI_2 (Moncada *et al.*, 1976). De plus, il a été démontré que PGH_2 était transformée par le tissu vasculaire en une substance ayant des effets vasodilatateurs et anti-aggrégants (propriétés opposées à celles du TXA_2). Malgré sa courte demi-vie, la structure de cette substance, PGI_2 , a été élucidée et par la suite elle a été synthétisée (Johnson *et al.*, 1976 ; Whittaker, 1977).

1.1.2 Les leucotriènes

Tout comme les premiers prostanoïdes étaient découverts dans les années trente, les leucotriènes l'étaient aussi. Kellaway et Trethewie (1940) ont démontré la libération d'un spasmogène différent de l'histamine dans l'effluent de poumons de cobayes sensibilisées avec un antigène ayant les mêmes propriétés pharmacologiques (facteur myotrope) que celles obtenues auparavant par Feldberg et Kellaway (1938). Ces derniers avaient mis en évidence la présence d'une substance ayant une activité contractile sur la musculature lisse dans l'effluent de poumons perfusés de cobayes et de chats avec un venin de cobra. Cette substance produisait une contraction lente et soutenue du jéjunum de cobaye. Initialement, cette substance était appelée « slow-reacting smooth muscle-stimulating substance » (SRSMSS) et par la suite, « slow reacting substance » (SRS). En 1953, Brocklehurst a prouvé que cette substance était différente de l'histamine en

démontrant que la contraction de l'iléon de cobaye n'était pas inhibée par un antihistaminique (mépyramine). Une enzyme contenue dans le venin de cobra (la phospholipase A₂) était le facteur de libération de la SRS qui était considérée comme un acide gras insaturé (Vogt, 1957). D'autre part, la SRS pouvait être libérée par un autre facteur que le venin de serpent, c'est-à-dire suite à la réaction antigène-anticorps. Brockelhurst (1962) a étudié le caractère pharmacologique unique de cette nouvelle substance et a mis l'accent sur son rôle important dans les réactions d'hypersensibilité en la renommant « slow-reacting substance of anaphylaxis » (SRS-A). Par contre, à cette époque plusieurs problèmes incluant la disponibilité limitée et la faible pureté empêchaient l'analyse structurale de cette substance.

Une dizaine d'années plus tard, Orange *et al.* (1973, 1974) démontraient la présence de soufre dans la SRS-A car celle-ci pouvait être inactivée par l'arylsulfatase. La stimulation de cellules péritonéales de rat (Bach et Brashler, 1974) et d'une lignée cellulaire tumorale : la « rat basophil leukemia cell » (RBL-1) (Jakschik *et al.*, 1977) avec l'ionophore du calcium A23187 pouvait donner des grandes quantités de SRS-A. Dans d'autres études utilisant l'ionophore du calcium A23187 comme facteur stimulateur de la relâche de la SRS-A, il a été possible de retrouver la radioactivité provenant de l'acide arachidonique précurseur de la SRS-A produite (Bach *et al.*, 1977 ; Jakschik *et al.*, 1977 ; Sirois, 1978). Morris *et al.* (1978) et Bach *et al.* (1979) ont utilisé la chromatographie à haute performance (HPLC ; « high performance liquid chromatography ») pour séparer quelques composantes de la SRS-A produite. Suite à la purification de la SRS-A, Morris *et al.* (1978) démontraient une triple absorption dans le spectre ultra-violet (U.V.) avec un maximum à 279 nm. De là, on a suggéré la présence de trois liaisons doubles conjuguées.

Ceci a permis de faire le lien entre la SRS-A et la famille de molécules qui sera connue sous le nom de leucotriènes. En 1979, il a été démontré que l'acide arachidonique était un précurseur dans la formation de la SRS-A en constatant que la lipoxygénase présente dans les fèves de soja (soybean lipoxxygenase ; une lipoxygénase spécifique en C₁₅) pouvait inactiver la SRS-A (Sirois *et al.*, 1979 ; Sirois, 1979). C'est la spécificité de cette enzyme pour la structure cis,cis-1,4-pentadiène présente dans l'acide arachidonique qui est à la base de ce phénomène.

L'étude du métabolisme de l'acide arachidonique par les cellules polymorphonucléaires de lapin, a permis d'identifier de nouveaux composés mono- et dihydroxylés (Borgeat *et al.*, 1976 ; Borgeat et Samuelsson, 1979c,d). D'autre part, un composé instable a été identifié comme intermédiaire dans le métabolisme de l'acide arachidonique en acide 5,6-dihydroxyéicosatétraénoïque (5,6-DHETE) et en acide 5,12-dihydroxyéicosatétraénoïque (5,12-DHETE). Ce composé était le leucotriène A₄, c'est-à-dire, l'acide 5,6-époxy-7,9,11,14-éicosatétraénoïque (Borgeat et Samuelsson, 1979b). En 1979, Murphy *et al.*, démontraient par l'incorporation de la cystéine marquée, la présence d'un acide aminé dans la SRS-A en utilisant des cellules tumorales (mastocytes) de souris stimulées avec l'ionophore du calcium A23187. Ceci confirmait qu'il y avait une partie peptidique à la molécule. Ce nouveau composé identifié a été nommé leucotriène C (Samuelsson *et al.*, 1979). C'est Samuelsson qui introduit le terme « leucotriène », ceci étant dérivé des mots « leucocyte » et « triène » qui représentent le type cellulaire dans lequel ces composés ont été retrouvés ainsi que la caractéristique structurale (trois liaisons doubles conjuguées) de ces composés. De plus, en 1979, un substituant en C-6 a été identifié par Hammarstrom *et al.* comme étant le γ -glutamylcystéinyglycine (glutathion). En 1980, une autre composante de la SRS-A a été identifiée par Orning *et al.* comme étant

dérivée du leucotriène C par l'action de la γ -glutamyltranspeptidase, le leucotriène D. Ce nouveau peptidolipide, le leucotriène D₄, a pu être identifié suite à l'analyse structurale de la SRS-A libérée du poumon de cobaye sensibilisé à l'ovalbumine (Morris *et al.*, 1980). D'autre part, Bernstrom et Hammarstrom (1987) ont démontré que le leucotriène E₄ était dérivé du leucotriène D₄ par la perte de l'acide aminé glycine. Le leucotriène A₄ peut aussi être métabolisé par l'oxygénation enzymatique en position C-5 et donner un acide dihydroxylé (l'acide 5S-12R-dihydroxytétraénoïque), le leucotriène B₄ (Radmark *et al.*, 1980).

1.2 MÉTABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE

1.2.1 Voie de la cyclooxygénase

Le terme « eicosanoïde » est un terme qui est applicable à n'importe quel acide gras de vingt atomes de carbone. Un grand nombre d'eicosanoïdes oxygénés sont formés par biosynthèse à partir des trois acides gras C₂₀ polyinsaturés les plus communément retrouvés chez les animaux tels l'acide arachidonique (l'acide 5-*cis*, 8-*cis*, 11-*cis*, 14-*cis*-eicosatétraénoïque), l'acide dihomog- γ -linoléique (l'acide 8-*cis*, 11-*cis*, 14-*cis*-eicosatriénoïque) et l'acide 5-*cis*, 8-*cis*, 11-*cis*, 14-*cis* 17-*cis*-eicosapentaénoïque. Les prostaglandines, formées à partir de l'acide arachidonique, sont des acides gras possédant vingt atomes de carbone et un anneau cyclopentane. De plus, puisque ces dernières proviennent de l'acide arachidonique, elles héritent de deux liaisons doubles sur leurs chaînes latérales (Lands, 1979). L'étape limitante de la biosynthèse des prostaglandines est la libération de l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires (Said, 1982). La concentration d'acide arachidonique libre dans les cellules est inférieure à 10⁻⁶ M,

ce qui est un à deux ordres de grandeur sous le K_M de la PGH synthase pour l'acide arachidonique ($\sim 5 \mu\text{M}$). Normalement, la majeure partie de ce dernier est retrouvée estérifiée en position *sn*-2 dans les phospholipides (Irvine, 1982). Les endopéroxydes PGG_2 et PGH_2 sont formés d'abord par oxygénation double et cyclisation de l'acide arachidonique (formation de PGG_2) et ensuite par la réduction de la prostaglandine G_2 (formation de la PGH_2) sous l'action d'une peroxidase (Lands, 1979). Ces transformations de l'acide arachidonique sont catalysées par la PGH synthase qui regroupe les actions de cyclooxygénase et d'hydroxyperoxidase (Figure 1). À partir de l'endoperoxide PGH_2 trois voies enzymatiques sont empruntées pour la formation des prostaglandines bioactives les plus importantes et le thromboxane. Pour la formation des prostaglandines E_2 , D_2 (des hydroxy cétones) et $\text{F}_{2\alpha}$ (un 1,3 diol), ce sont des isomérases spécifiques qui transforment la PGH_2 ; soit la PGH-PGE isomérase, la PGH-PGD isomérase et la PGH-PGF_α réductase respectivement (Figure 2). D'autre part, pour la biosynthèse de PGI_2 (prostacycline), c'est la prostacycline synthase qui transforme la PGH_2 (Figure 3). La troisième voie enzymatique de transformation de la PGH_2 est la thromboxane synthase qui résulte en la formation de thromboxane A_2 . Ces produits sont retrouvés dans presque tous les tissus, mais leur formation varie d'un tissu à l'autre, ceci dépendant de l'activité relative des différentes enzymes. Dans les poumons, la biosynthèse des prostaglandines a lieu majoritairement dans les cellules endothéliales (formant surtout la PGI_2), dans les macrophages alvéolaires, les fibroblastes et les pneumocytes de type II (Said, 1982). Par ailleurs, on retrouve surtout l'activité thromboxane synthase dans les plaquettes (le thromboxane étant un puissant vasoconstricteur et un puissant agent aggrégant des plaquettes) et on retrouve la prostacycline synthase dans les cellules endothéliales vasculaires.

Figure 1 : Mécanisme d'action de la cyclooxygénase dans la formation des prostaglandines G_2 et H_2 à partir de l'acide arachidonique.

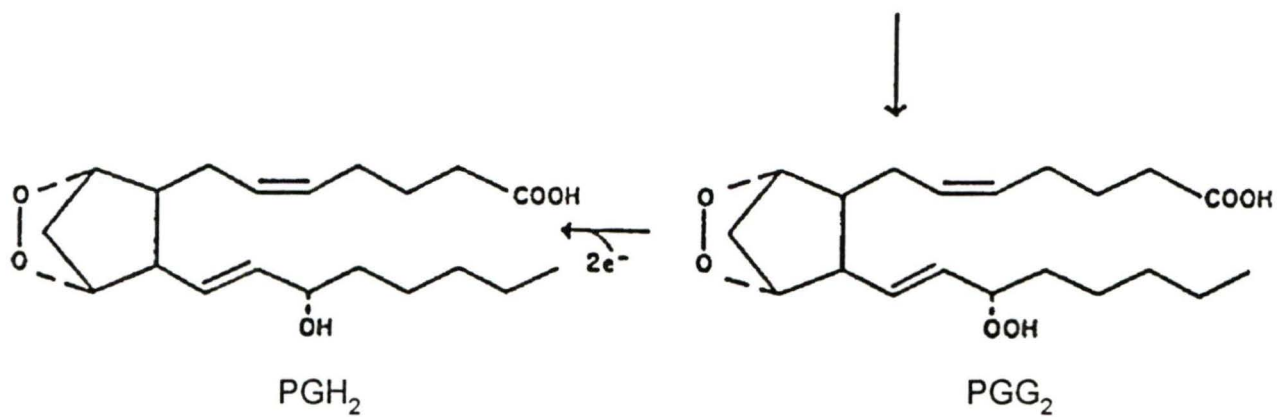
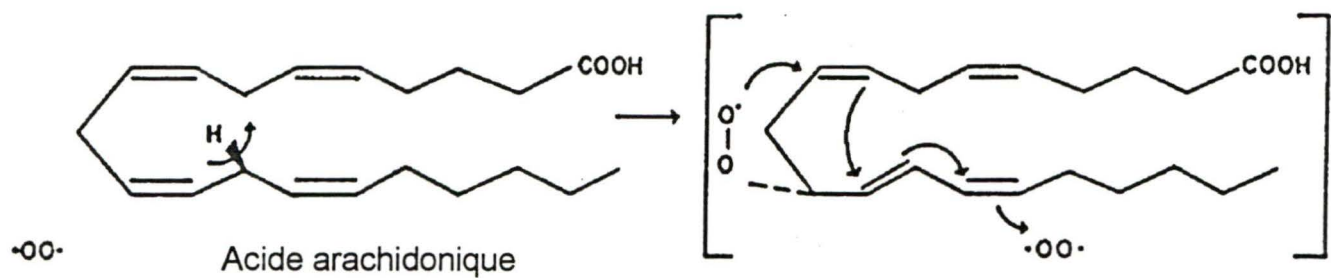


Figure 2 : Catabolisme de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase et biosynthèse des prostaglandines (PG) E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ et leurs métabolites.

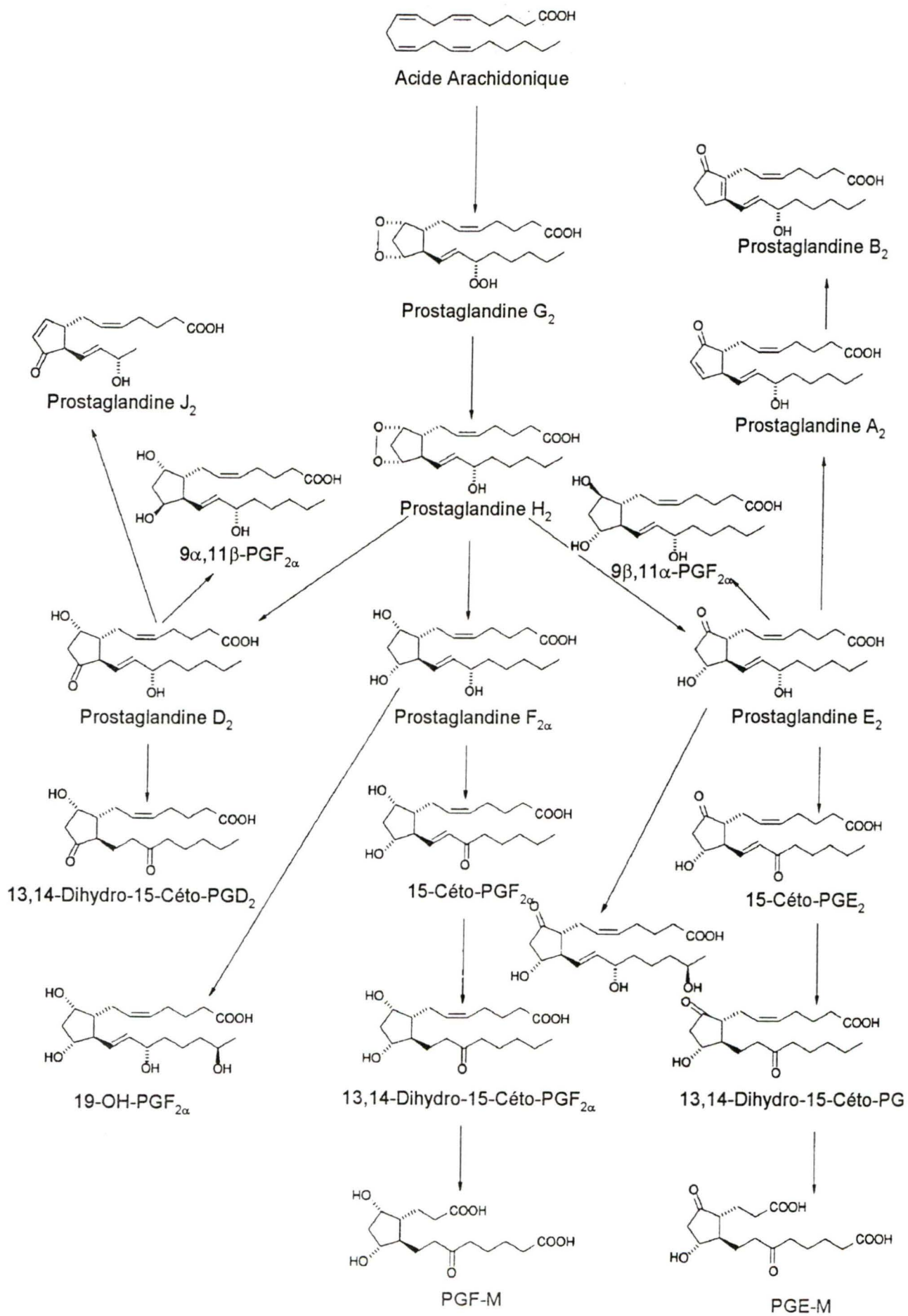
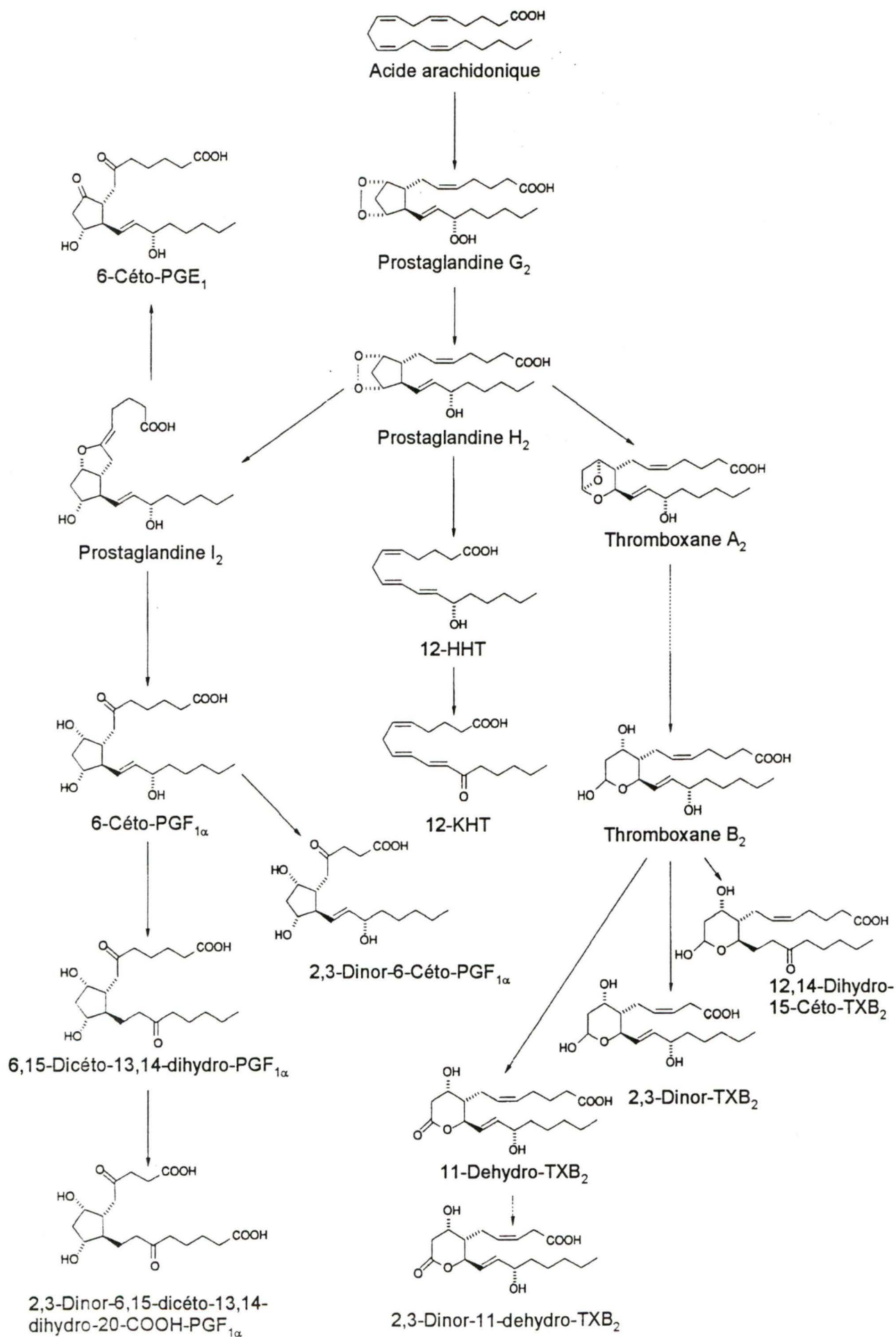


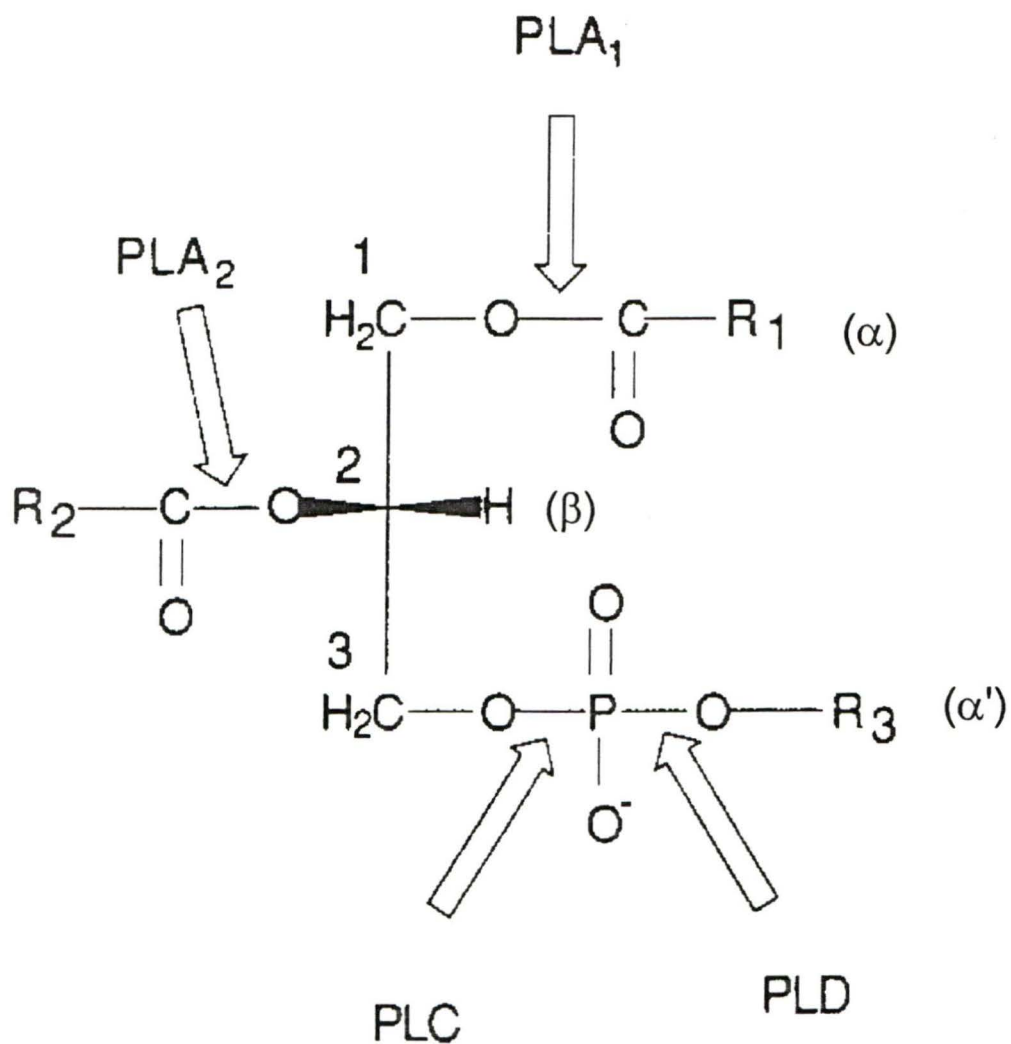
Figure 3 : Catabolisme de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase et biosynthèse de la prostaglandine (PG) I_2 (prostacycline) et des thromboxanes (TX) A_2 et B_2 et leurs métabolites.



1.2.2 Voie de la lipoxycgénase

Les leucotriènes sont des composés biologiquement très actifs tant au niveau de la chémotaxie cellulaire qu'au niveau de leurs activités sur les muscles lisses (particulièrement au niveau pulmonaire). Ces composés sont dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique par l'enzyme 5-lipoxycgénase (lipoxycgénase en C-5). Avec les prostaglandines et le thromboxane, ces molécules font partie de la famille des eicosanoïdes, famille qui regroupe tous les produits d'oxygénation de l'acide arachidonique et des autres acides gras polyinsaturés ayant vingt atomes de carbone. Afin de rendre disponible l'acide arachidonique pour l'oxygénation par la 5-lipoxycgénase, cet acide gras doit être libéré des phospholipides membranaires par l'hydrolyse de ceux-ci sous l'action de la phospholipase A₂ (Figure 4). Ce sont les acides gras possédant une structure *cis,cis*-1,4-pentadiène qui sont la cible de la lipoxycgénase qui catalyse une hydroxyperoxydation (Hayaishi *et al.*, 1975). De plus, l'action de la 5-lipoxycgénase est dépendante du calcium (Jakschik, 1980). Oelz *et al.* (1978) et Borgeat et Samuelsson (1979a) confirment ces observations en montrant que l'ionophore du calcium A23187 stimule la libération d'acide arachidonique à partir de la membrane ainsi que la formation de prostaglandines, de thromboxane et d'acides hydroxtétraénoïques. Au niveau pulmonaire, l'acide arachidonique est d'abord transformé en 5-HPETE (acide (5S)-5-hydroperoxy-6-*trans*, 8-*cis*, 11-*cis*, 14-*cis*-eicosatétraénoïque) sous l'action de la 5-lipoxycgénase. Ce dernier est ensuite rapidement converti en 5-HETE (acide (5S)-5-hydroxy-6-*trans*, 8-*cis*, 11-*cis*, 14-*cis*-eicosatétraénoïque) et en un composé instable, le leucotriène A₄ (acide (5S, 6S)-5,6-époxy-7,9-*trans*-11,14-*cis*-éicosatétraénoïque). Ce dernier est caractérisé par la présence d'un époxide en position 5-6. Dans la nomenclature des leucotriènes (par exemple LTA₄), les

Figure 4 : Sites d'action possibles des phospholipases (PL), PLA_1 , PLA_2 , PLC et PLD lors du clivage des phospholipides membranaires.



Phosphocholine

R_1, R_2 = ester d'acide gras à longue chaîne
 R_3 = $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$

Phosphoéthanolamine

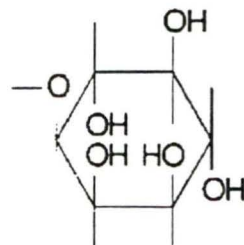
R_1, R_2 = ester d'acide gras à longue chaîne
 R_3 = $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$

Phosphoglycérol

R_1, R_2 = ester d'acide gras à longue chaîne
 R_3 = $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}; \text{Na}^+$

Phosphatidylinositol

R_1, R_2 = ester d'acide gras à longue chaîne
 R_3 =

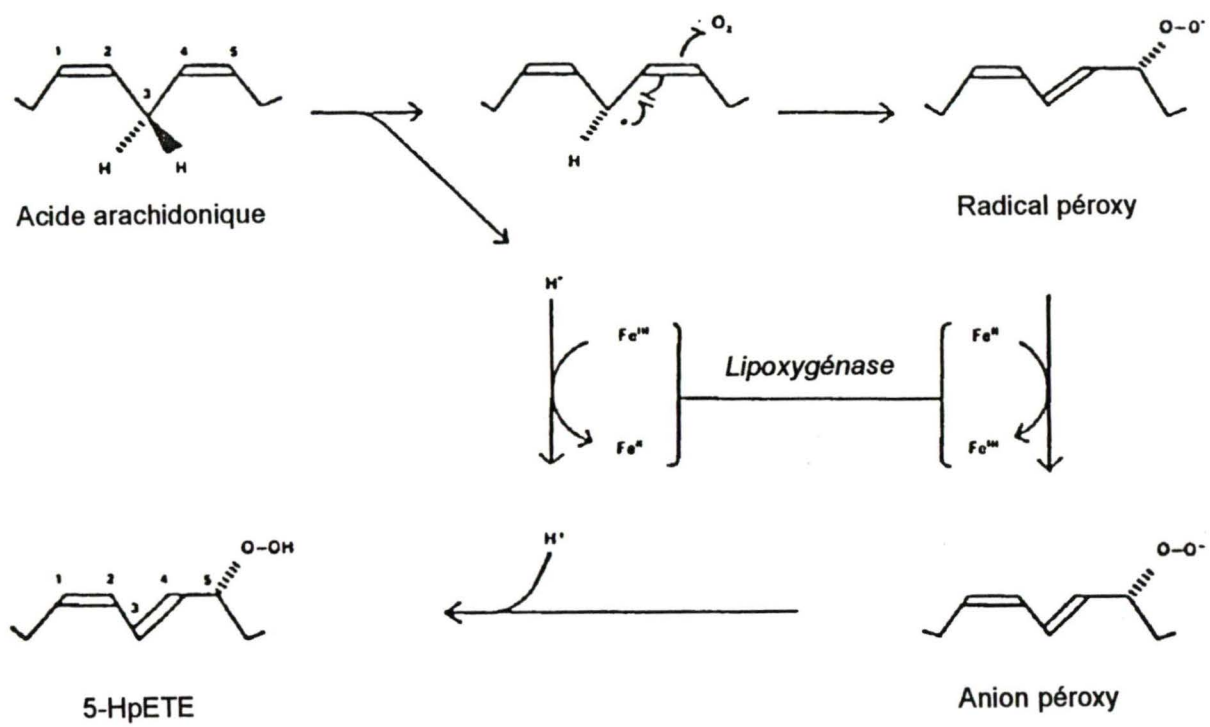


Phosphosérine

R_1, R_2 = ester d'acide gras à longue chaîne
 R_3 = $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-; \text{Na}^+$

lettres *LT* signifient leucotriène, la lettre *A* indique la nature et la position du substituant contenant l'oxygène et le chiffre *4* indique le nombre de liaisons doubles que contient la molécule (cette nomenclature est analogue à celle utilisée pour les prostaglandines). La 5-lipoxgénase possède à la fois l'activité 5-HPETE synthase et l'activité LTA₄ synthase (Figure 5), ce qui lui confère les deux premières activités enzymatiques impliquées dans la formation des leucotriènes (Ueda *et al.*, 1986 ; Shimizu *et al.*, 1986 ; Hogaboom *et al.*, 1986). Une fois le leucotriène A₄ formé, celui-ci peut être métabolisé de deux façons distinctes (Figure 6), soit de façon enzymatique pour donner des composés biologiquement très actifs, tels les leucotriènes B₄, C₄, D₄ et E₄, soit par hydrolyse non-enzymatique pour donner des composés biologiquement peu actifs, tels les acides 5,6 et 5,12 dihydroxyéicosatétraénoïques (diHETE) (Borgeat et Samuelsson, 1979c). Le LTA₄ subit une conversion enzymatique en différents composés qui sont importants biologiquement. Sous l'action d'une hydrolase (LTA₄ hydrolase), le produit de l'hydrolyse enzymatique du LTA₄ est le LTB₄ (acide (5S,12R)-5,12-dihydroxy-6,14-*cis*-8,10-*trans*-éicosatétraénoïque) (Borgeat et Samuelsson, 1979b,d). D'autre part, les leucotriènes ont été retrouvés dans différents milieux d'incubation, tels ceux contenant des macrophages alvéolaires, des macrophages péritonéaux, des monocytes, des polymorphonucléaires humains et des mastocytes (Sirois et Borgeat, 1982). Hansson *et al.* (1981) démontrent que le LTB₄ est inactivé par ω -oxydation en 20-hydroxy et 20-carboxy-leucotriène B₄. Cette inactivation se fait sous l'action de l'enzyme cytochrome P-450 (Shak et Goldstein, 1985). Toutefois, cette inactivation n'est que partielle, car Borgeat (1982) a démontré que le 20-carboxy-leucotriène B₄ n'a qu'une faible activité biologique, mais le 20-hydroxy-leucotriène B₄ est actif sur certaines préparations.

Figure 5 : Mécanisme d'action de la lipoxygénase lors du catabolisme de l'acide arachidonique.



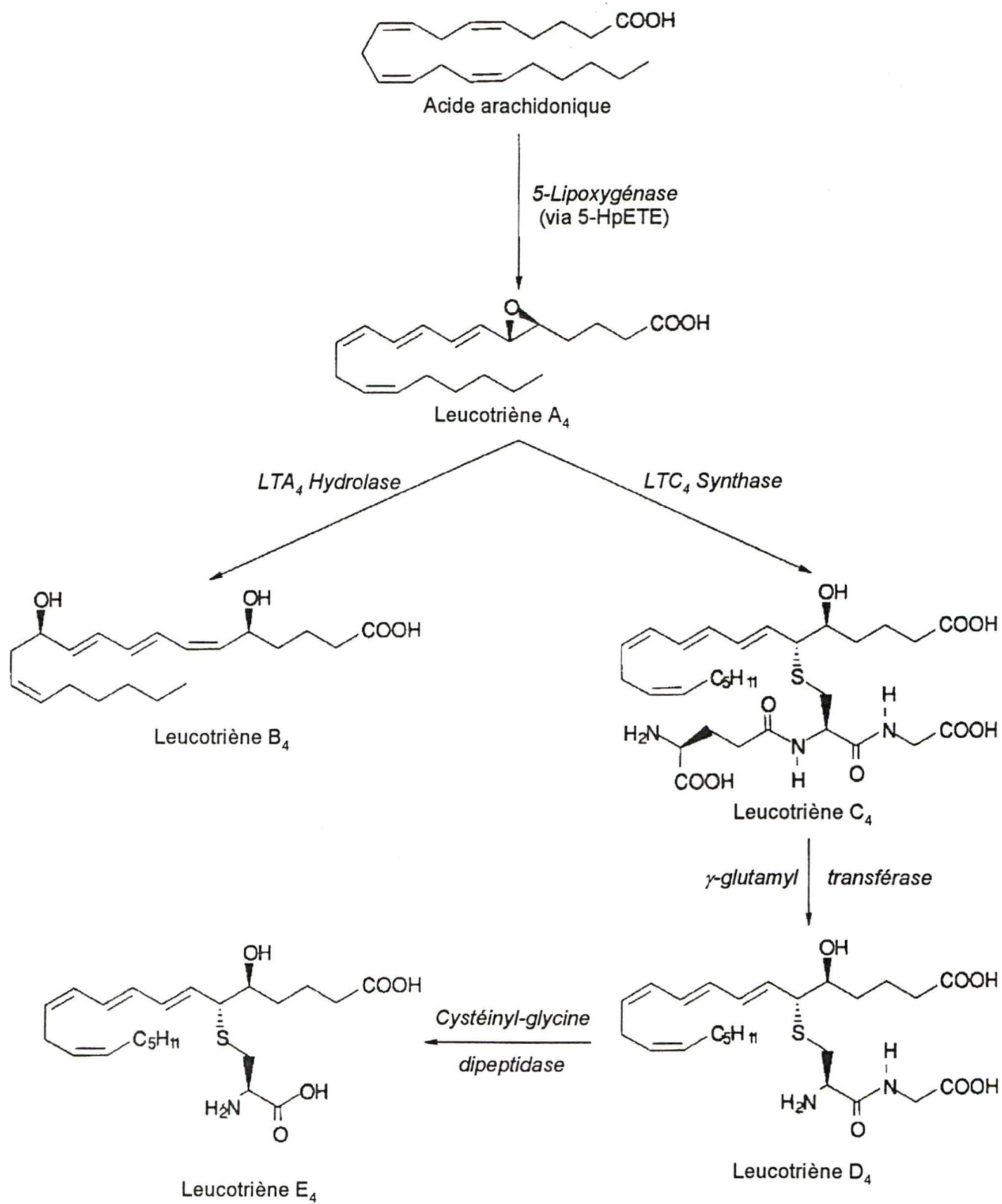
Par ailleurs, le LTA_4 est aussi métabolisé par la glutathion-S-transférase (transpeptidase, aussi appelée leucotriène C_4 synthase) qui additionne le glutathion (un peptide de trois acides aminés) en position C-6 du LTA_4 (Murphy *et al.*, 1979). Le résultat de cette addition est le leucotriène C_4 (acide (5S, 6R)-5-hydroxy-6-S-glutathionyl-7,9-*trans*-11,14-*cis*-éicosatétraénoïque). Ce dernier peut ensuite être métabolisé sous l'action de la γ -glutamyl-transpeptidase (hydrolyse enzymatique de la chaîne peptidique de LTC_4 et perte d'un résidu γ -glutamyl) pour donner le LTD_4 (acide (5S, 6R)-5-hydroxy-6-S-cysténylglyciny-7,9-*trans*-11,14-*cis*-éicosatétraénoïque). Ce dernier est enfin métabolisé en LTE_4 (acide (5S, 6R)-5-hydroxy-6-S-cystényl-7,9-*trans*-11,14-*cis*-éicosatétraénoïque) sous l'action d'une dipeptidase qui clive le résidu glycine du LTD_4 (Orning *et al.*, 1980 ; Parker *et al.*, 1980). Un seul résidu acide aminé (cystéine) est conservé en position 6 de la chaîne de carbones du LTE_4 (Lewis *et al.*, 1980).

1.3 PHARMACOLOGIE DES EICOSANOÏDES

1.3.1 Les prostaglandines et le thromboxane

Les prostaglandines et le thromboxane sont des eicosanoïdes qui ont un très vaste champ d'action. Ces molécules exercent leurs actions biologiques principalement au niveau du système respiratoire, du système cardio-vasculaire et du système digestif. De plus, leurs effets sont bien reconnus au niveau de l'aggrégation plaquettaire et de la neurotransmission (principalement au niveau de la perception de la douleur). Les prostanoïdes ont aussi des effets pharmacologiques au niveau des reins, du système endocrinien et sur le métabolisme. Par ailleurs, les prostanoïdes endogènes ont plusieurs rôles dans les processus

Figure 6 : Catabolisme de l'acide arachidonique par la 5-lipoxygénase et biosynthèse des leucotriènes (LT), LTA_4 , LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 et LTE_4 .
Identification des enzymes impliquées.



physiologiques (et pathologiques), entre autres, au niveau du système reproducteur et de la parturition et au niveau de l'inflammation et de la réponse immunitaire.

Au niveau pulmonaire, les métabolites de l'acide arachidonique provenant de la voie de la cyclooxygénase exercent leurs effets à la fois sur les voies respiratoires et sur la circulation pulmonaire. Sur la trachée de cobaye, les prostaglandines peuvent exercer à la fois des effets contractiles ou relaxants dépendamment des conditions expérimentales, donc dépendamment du tonus du tissu (ces observations sont évidentes dans les travaux de Tomioka et Maeno (1979)). Initialement, la plupart des études sur la trachée de cobaye ont été faites sous un tonus basal inhérent, c'est-à-dire dans un état de contraction partielle qu'un tissu atteint lors de la période d'équilibration dans le bain à tissus isolés. Ce tonus inhérent du tissu est dû en grande partie à la synthèse et la relâche continue de prostanoïdes endogènes (Orehek *et al.*, 1973). Sous ces conditions, tous les prostanoïdes exogènes à l'exception de PGE_2 et PGE_1 contractent ce tissu (Schneider et Drazen, 1980). Par contre, indifféremment du tonus initial du tissu, le thromboxane A_2 est un puissant agent contractile de la trachée de cobaye. L'ordre de puissance de ces produits est les suivant : U-46619 (analogue stable du thromboxane A_2) $\gg \text{PGD}_2 > \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGI}_2$. D'autre part, lorsque le niveau du tonus est bas, en présence d'un inhibiteur de la cyclooxygénase (par exemple l'indométacine), tous les prostanoïdes exogènes induisent des contractions. Dans ces conditions, l'ordre de puissance de contraction de la trachée de ces prostanoïdes est : $\text{PGE}_2 = \text{U-46619} > \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGI}_2 > \text{PGD}_2$. Par contre, lorsque le tonus du tissu est élevé, c'est-à-dire lorsqu'un tonus est induit en présence d'un spasmogène non-eicosanoïde tel le carbachol, ceci révèle la vraie activité relaxante des prostanoïdes (Schneider et Drazen,

1980 ; Coleman et Kennedy, 1980). Sous ces conditions, les prostanoïdes à l'exception du TxA_2 relaxent le tissu avec l'ordre de puissance suivant : PGE_1 et PGE_2 induisant des relaxations maximales et PGI_2 , PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$ ont des activités variables, mais faibles. Chez l'homme, les prostaglandines $\text{F}_{2\alpha}$ et D_2 sont des agonistes contractiles au niveau des bronchioles (Sweatman et Collier, 1968 ; Dawson *et al.*, 1974 ; Hedqvist *et al.*, 1978 ; Karim *et al.*, 1980 ; Black *et al.*, 1986). De plus, il a été mis en évidence chez le chien qu'une grande partie de la bronchoconstriction induite par la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$ (administrée i.v. ou en aérosol) est médiée par la voie cholinergique, car elle est abolie en présence d'atropine (Wasserman, 1975 ; Wasserman *et al.*, 1980b). D'autre part, les prostaglandines E_2 et I_2 sont des bronchodilatateurs (Spannhake *et al.*, 1981). Plusieurs autres études chez le chat et le singe démontrent des résultats semblables. Au niveau de la circulation pulmonaire, la prostaglandine E_2 est un vasoconstricteur ou un vasodilatateur dépendamment du tissu et de l'espèce animale. Par exemple, PGE_2 est un vasoconstricteur des vaisseaux précapillaires de porc (cet effet étant intensifié en présence de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Kadowitz *et al.*, 1975)), mais est un vasodilatateur des veines et artères pulmonaires de veau (Lewis et Eyre, 1972). D'autres expériences ont démontrées que la prostaglandine D_2 augmentait la résistance vasculaire chez le chien (Wasserman *et al.*, 1977). Le thromboxane A_2 , par contre, est un vasoconstricteur dans toutes les conditions expérimentales ainsi que chez toutes les espèces (Smith, 1980 ; Whittle *et al.*, 1981). Au niveau pulmonaire, certaines prostaglandines ($\text{PGF}_{2\alpha}$ et PGD_2) peuvent augmenter la production de mucus, ainsi causant une obstruction des voies respiratoires. Cet effet est important chez les asthmatiques dont l'arbre trachéo-bronchique est déjà en état de bronchospasme.

Les poumons métabolisent très rapidement les prostaglandines en circulation dû à leur position unique entre la circulation veineuse et artérielle. En fait, Ferreira et Vane (1967) ont observé que plus de 90% des prostaglandines E_1 et $F_{2\alpha}$ étaient inactivées après un seul passage dans la circulation pulmonaire. De plus, Armstrong *et al.* (1976) démontraient une diminution de l'hypotension induite par PGE_2 lorsqu'administré par voie intraveineuse que lorsqu'elle était administrée de façon intra-artérielle. La prostacycline, par contre, n'est pas inactivée au niveau des poumons (Dusting *et al.*, 1978). Celle-ci a donc été caractérisée comme étant une hormone circulante par Moncada *et al.* (1978).

Les prostaglandines ont aussi plusieurs effets au niveau cardio-vasculaire, où la prostaglandine E_2 diminue la résistance périphérique causant ainsi une augmentation du rendement cardiaque (Karim *et al.*, 1971). Chez l'homme la prostaglandine $F_{2\alpha}$ ne modifie pas la pression sanguine. Au niveau du cœur, les prostaglandines E_2 et $F_{2\alpha}$ ont un effet inotrope positif (Rose *et al.*, 1974). Les prostaglandines endopéroxydes ont des effets variables dans les lits vasculaires. Les effets majeurs sont un résultat de leurs activités vasoconstrictrices intrinsèques couplées avec une vasodilatation due à leur conversion rapide en une prostaglandine vasodilatatrice (probablement PGI_2). Lorsque la prostacycline est injectée de façon intraveineuse chez le lapin ou le rat, l'hypotension observée est jusqu'à cinq fois plus importante que celle induite par PGE_2 (Armstrong *et al.*, 1978). Les prostaglandines endopéroxydes sont rapidement convertis en prostacycline durant leur passage au niveau du poumon. De plus, celles-ci induisent l'aggrégation plaquettaire, mais elles sont beaucoup moins puissantes que le thromboxane A_2 (Hamberg *et al.* 1975). D'autres prostaglandines agissent de façon opposée. La PGD_2 et la prostacycline (dix fois

plus puissante) ont des propriétés anti-aggrégantes (Smith *et al.*, 1974 ; Whittle et Moncada, 1983, respectivement). La prostacycline agit donc comme antagoniste physiologique du thromboxane A_2 .

Au niveau du système gastro-intestinal, les prostaglandines ont des effets sécrétoires et myotropes. Les muscles longitudinaux de l'estomac jusqu'au colon sont contractés par les prostaglandines de type E et F, tandis que les muscles circulaires, de façon générale, relaxent en réponse aux prostaglandines de type E, mais contractent en réponse aux prostaglandines de type F. Les prostaglandines endopéroxydes, le TxA_2 et la prostacycline induisent des contractions, mais sont beaucoup moins actives que les prostaglandines des deux types mentionnées plus haut. Lorsque les prostaglandines E_2 et $F_{2\alpha}$ sont administrées chez l'homme, il en résulte une augmentation de la motilité intestinale (Milton-Thompson *et al.*, 1975). Les prostaglandines de type E et la prostacycline inhibent la sécrétion d'acide gastrique stimulée par le bol alimentaire, par l'histamine ou par la gastrine. De plus, ces prostaglandines sont des vasodilatateurs de la muqueuse gastrique. La PGI_2 peut être impliquée dans la régulation du flux sanguin local. D'autre part, la sécrétion de mucus dans l'estomac et l'intestin grêle est augmentée par les prostaglandines de type E.

Les prostaglandines ont aussi plusieurs autres effets chez différentes espèces animales. Chez la souris et le chat, les prostaglandines de type E ont un effet sédatif (Holmes et Horton, 1969 ; Wolfe, 1982, respectivement). Dans un état d'inflammation, elles seraient des agents pyrogènes (Sharon *et al.*, 1978).

1.3.2 Les leucotriènes

Tout comme les prostaglandines, les leucotriènes agissent à plusieurs niveaux de l'organisme. Ils agissent au niveau cardio-vasculaire, au niveau de l'arbre trachéo-bronchique et dans des états d'inflammation. Les leucotriènes ne sont pas des hormones circulantes, mais plutôt des autacoïdes car leurs sites d'action sont à proximité de leur lieu de synthèse et de relâche. Piper *et al.* (1981) ont observé que leur inactivation était très rapide et quasi totale lors de leur passage dans la circulation pulmonaire.

Il existe deux catégories de leucotriènes : les peptido-leucotriènes (LTC_4 , LTD_4 et LTE_4 ; molécules ayant un ou plusieurs acides aminés sur la chaîne latérale) et le LTB_4 (résultat de l'hydrolyse enzymatique du LTA_4). En général, les leucotriènes C_4 , D_4 , et E_4 sont des composés myotropes et le leucotriène B_4 est plutôt un agent impliqué dans la chimiotaxie, soit dans les états d'inflammation (Ford-Hutchinson *et al.*, 1980). Les leucotriènes myotropes ont une puissance relative variant dans les différents tissus. Par contre, de façon générale, les leucotriènes C_4 et D_4 ont une puissance relative équivalente alors que le leucotriène E_4 est beaucoup moins actif (Lewis *et al.*, 1982). Au niveau des voies respiratoires des mammifères, leurs effets contractiles sont cent à mille fois plus puissants que ceux de l'histamine (Sirois *et al.*, 1981b ; Sirois, 1985). Le leucotriène B_4 a aussi des propriétés myotropes au niveau du parenchyme pulmonaire de cobaye et stimule la libération de thromboxane A_2 , un puissant bronchoconstricteur (Sirois *et al.*, 1982b). De plus, le leucotriène B_4 induit des contractions au niveau des bronches isolées de cobaye (Sirois *et al.*, 1987). Par contre, ce dernier est principalement reconnu pour ses propriétés chimiotactiques et chimiocinétiques pour les leucocytes polymorpho-nucléaires,

soient les neutrophiles et les éosinophiles (Smith *et al.*, 1980 ; Ford-Hutchinson *et al.*, 1980 ; Nagy *et al.*, 1982 ; Bray *et al.*, 1981) et il induit leur aggrégation. De plus, ce leucotriène est aussi chimiotactique pour les macrophages et monocytes (Smith *et al.*, 1980). Le leucotriène B₄ induit une extravasation plasmatique en augmentant la perméabilité vasculaire ce qui mène à l'oedème (Bjork *et al.*, 1982). Cette extravasation plasmatique est aussi induite par les peptido-leucotriènes. Celle-ci peut être augmentée en présence de prostaglandine E₂ ou de prosrcycline dû à leurs propriétés vasodilatatrices (Peck *et al.*, 1981).

Au niveau cardio-vasculaire de l'homme, les leucotriènes C₄ et D₄ induisent une hypotension (Feuerstein, 1984 ; Piper, 1984). Par contre, les leucotriènes peuvent aussi induire une vasoconstriction chez d'autres espèces. Par exemple, les leucotriènes C₄ et D₄ sont des vasoconstricteurs chez le hamster (Dahlen *et al.*, 1981).

Au niveau des muscles lisses pulmonaires, les leucotriènes sont des agents myotropes puissants. Par exemple, chez l'homme et chez plusieurs autres espèces les leucotriènes C₄ et D₄ sont de puissants agents bronchoconstricteurs (Piper, 1984 ; Drazen et Austen, 1987). Leurs effets bronchoconstricteurs sont surtout médiés par leurs effets directs sur les muscles lisses des différents tissus. Plus spécifiquement, les leucotriènes ont un effet myotrope chez l'homme au niveau des bronches et bronchioles (Dahlen *et al.*, 1980 ; Chagnon *et al.*, 1985) et sur la trachée, les bronches et le parenchyme pulmonaire de certains modèles animaux (Sirois *et al.*, 1981b ; Sirois *et al.*, 1987). La production de mucus est induite par les peptido-leucotriènes (LTC₄, LTD₄ et LTE₄) au niveau du système pulmonaire chez l'homme et chez les animaux (Piper, 1984).

Dans la réponse aux leucotriènes des différentes préparations tissulaires de poumons de cobaye, les prostanoïdes et le thromboxane A_2 jouent un important rôle comme médiateurs de l'activité myotrope des leucotriènes. Ceci a été mis en évidence lors de l'utilisation d'inhibiteurs de la cyclooxygénase telle l'indométacine ainsi que d'inhibiteurs de la thromboxane synthase. Les produits de la cyclooxygénase contribuent de façon beaucoup plus importante à l'activité myotrope du leucotriène B_4 qu'à celle des peptido-leucotriènes (Sirois *et al.*, 1985b). L'activité contractile des leucotriènes C_4 , D_4 et E_4 n'est pas affectée par plusieurs antagonistes pharmacologiques ce qui suggère qu'ils agissent via leurs propres récepteurs spécifiques (Holme *et al.*, 1980 ; Krell *et al.*, 1981). De plus, l'antagoniste compétitif FPL-55712 inhibe sélectivement l'action des peptido-leucotriènes sur les voies respiratoires (Drazen et Austen, 1987 ; Prié et Sirois, 1988) ce qui appuie la suggestion de la présence de récepteurs spécifiques aux leucotriènes.

1.4 LES NEUROMÉDIATEURS

1.4.1 L'acétylcholine et ses dérivés

L'acétylcholine (Ach) a d'abord été synthétisée par Baeyer en 1867. La première proposition concrète d'un mécanisme neurohumoral a été faite au tout début du présent siècle. Lewandowski (1898) et Langley (1901) ont noté indépendamment la similitude entre les effets d'injections d'extraits de glande surrénale et la stimulation des nerfs sympathiques. Quelques années plus tard, en 1905, T. R. Elliot a étendu ces observations et a postulé que les impulsions des nerfs sympathiques relâchent des quantités infimes d'une substance similaire à l'épinephrine en contact direct avec les cellules effectrices. En 1907,

Dixon suggère que le nerf vague libère une substance semblable à la muscarine qui agissait comme transmetteur chimique de ses impulsions. Durant la même année, Reid Hunt décrivait les actions de l'acétylcholine et d'autres esters. En 1914, Dale a étudié à fond les propriétés de l'acétylcholine et distingue ses actions muscariniques et nicotiniqes. Dale a aussi noté l'action très courte de cette substance et a proposé que celle-ci était rapidement séparée en acide acétique et en choline, ainsi terminant son action. C'est plus d'une décennie plus tard que Loewi et Navratil (1926) ont identifié l'acétylcholine comme transmetteur du nerf vague chez la grenouille. Ce n'est qu'en 1933 que Feldberg et Kraye démontrent que c'est aussi l'acétylcholine qui est le transmetteur chimique du nerf vague chez les mammifères. Parmi plusieurs centaines de dérivés synthétiques de la choline, seulement la métacholine, le carbachol et le bethanechol ont eu des applications cliniques. La métacholine, l'analogue β -méthyl de l'acétylcholine, a été étudiée par Hunt et Taveau en 1911. Le carbachol, l'ester carbamyl de la choline et le bethanechol, son analogue β -méthyl, ont été synthétisés et étudiés dans les années trente.

L'acétylcholine a des propriétés pharmacologiques à plusieurs niveaux. Celle-ci a des effets sur le système cardio-vasculaire, sur le système gastro-intestinal, sur le tractus urinaire et au niveau de l'œil. Au niveau cardio-vasculaire, l'acétylcholine a quatre effets primaires : la vasodilatation, une diminution du rythme cardiaque (effet chronotrope négatif), une diminution du taux de conduction dans les tissus spécialisés des noeuds sinoatriaux et atrioventriculaires (effet dromotrope négatif) ainsi qu'une diminution de la force de contraction cardiaque (effet inotrope négatif). L'acétylcholine induit une dilatation d'à peu près tous les lits vasculaires incluant les lits pulmonaire et coronaire. La dilatation

des lits vasculaires par les esters de la choline est due à la présence de récepteurs muscariniques (principalement du sous-type M_3) sur les cellules endothéliales (Bruning *et al.*, 1994). La vasorelaxation est indirecte car lorsque ces récepteurs endothéliaux sont activés, ils induisent la relâche d'oxyde nitrique qui diffuse vers les muscles lisses pour les relaxer (Moncada *et al.*, 1991).

Au niveau gastro-intestinal, l'acétylcholine et ses dérivés sont capables d'augmenter le tonus, l'amplitude de contraction, l'activité péristaltique de l'estomac et des intestins ainsi que d'augmenter les sécrétions du tractus gastro-intestinal.

Au niveau pulmonaire, l'acétylcholine et ses dérivés induisent des contractions des muscles lisses de préparations tissulaires de poumons. Ceux-ci contractent donc les trachées et bronches isolées de plusieurs espèces. La métacholine induit une bronchoconstriction *in vivo* lorsqu'elle est administrée en aérosol chez l'homme ainsi que chez plusieurs autres espèces. Les sécrétions de l'arbre trachéo-bronchique sont aussi augmentées par l'acétylcholine.

1.4.2 La sérotonine (5-hydroxytryptamine)

Dans les années trente, Erspamer a commencé à étudier la distribution de cellules entérochromaffines qui devenaient marquées avec des colorants pour indoles. La plus grande concentration a été retrouvée au niveau de la muqueuse gastro-intestinale, dans les plaquettes et dans le système nerveux central ; cet indole inconnu a alors été nommé enteramine (Erspamer, 1966a,b). Page et ses collègues ont été les premiers à isoler et à

caractériser chimiquement une substance vasoconstrictrice relâchée par les plaquettes lors de la coagulation (Rapport *et al.*, 1948). Cette substance a été appelée sérotonine (Page, 1976). En 1957, Brodie et Shore ont suggéré que la 5-hydroxytryptamine peut agir comme neurotransmetteur dans le système nerveux central.

La sérotonine a plusieurs propriétés physiologiques et pharmacologiques. Ses propriétés physiologiques se retrouvent à différents niveaux. Par exemple, au niveau cardiovasculaire, la réponse classique des vaisseaux sanguins à la sérotonine est une contraction, surtout des lits vasculaires splanchnique, pulmonaire, rénal et cérébral. Cet effet contractile se produit aussi au niveau des muscles lisses bronchiques. Le cœur est aussi une cible de la sérotonine où celle-ci peut induire un effet chronotrope et inotrope positif (Saxena et Villalón, 1990). Au niveau du système gastro-intestinal, la sérotonine régule les fonctions du tractus. La motilité des muscles lisses gastriques et intestinaux peut être soit augmentée ou inhibée (Dhasmana *et al.*, 1993). De plus, la sérotonine intervient de façon importante au niveau du système nerveux central. Une multitude de fonctions cérébrales sont influencées par cette substance, par exemple, le sommeil, la cognition, la perception sensorielle, l'activité motrice, la régulation de la température, la nociception, l'appétit, le comportement sexuel et la sécrétion hormonale (Goodman & Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. 1997). D'autre part, la sérotonine intervient dans le processus de coagulation comme vasoconstricteur suite à sa relâche par les plaquettes en aggrégation. Au niveau pharmacologique, ce sont plutôt les agonistes et antagonistes spécifiques des différents sous-types de récepteurs que la substance elle-même qui soulignent la pharmacologie de la sérotonine. Ces agonistes et antagonistes sont utilisés principalement

pour moduler ou modifier les fonctions systémiques identifiées ci-haut. Chez la souris, la sérotonine est impliquée dans la réponse allergique au même titre que l'histamine chez l'homme ou le cobaye. Celle-ci est libérée par les mastocytes suite à la réexposition à un allergène.

1.5 PEPTIDES BIOACTIFS

1.5.1 La vasopressine

La vasopressine est une hormone peptidique (9 résidus acides aminées) sécrétée par la glande hypophyse postérieure. Celle-ci a de nombreuses fonctions au niveau cardio-vasculaire, au niveau rénal, au niveau du système nerveux central et au niveau de la coagulation. Au niveau cardio-vasculaire, les actions de la vasopressine sont très complexes. Cette hormone est un puissant vasoconstricteur (action médiée par les récepteurs V_1) qui peut affecter la résistance de tous les vaisseaux de la circulation (Laszlo *et al.*, 1991). Au niveau du cœur, la vasopressine induit une diminution du débit cardiaque ainsi qu'une diminution de la fréquence cardiaque. Par contre, ces effets sont secondaires aux effets vasculaires de l'hormone. Au niveau du système nerveux central, cette hormone joue le rôle d'un neurotransmetteur ou un neuromodulateur (Gash *et al.*, 1987 ; Jolles, 1987). De plus, la vasopressine peut moduler les systèmes autonomes du système nerveux central qui régulent la fréquence cardiaque, la pression artérielle et la fréquence respiratoire, mais la signification physiologique n'est pas encore claire.

Sans doute l'activité la plus importante de la vasopressine est son action rénale antidiurétique, d'où provient son appellation alternative soit hormone antidiurétique. La vasopressine, via les récepteurs V_2 , augmente la perméabilité des tubules collecteurs à l'eau. De plus, la vasopressine augmente le transport de l'ion sodium et de l'urée (Star *et al.*, 1988 ; Schafer et Troutman, 1990).

Sur le plan pharmacologique, ce sont les agonistes des récepteurs de la vasopressine (V_1 et V_2) qui permettent de moduler différents effets de la vasopressine. Par exemple, les agonistes des récepteurs V_1 sont utilisés pour leurs effets contractiles au niveau de la musculature lisse des vaisseaux sanguins ainsi que pour leurs effets myotropes sur les muscles lisses gastro-intestinaux. D'autre part, les agonistes des récepteurs V_2 sont utilisés pour leurs effets sur les reins où ils induisent l'effet antidiurétique de la vasopressine. Les agonistes des récepteurs V_2 ont aussi des applications au niveau de la coagulation car ils permettent une augmentation de la relâche de facteurs de coagulation (Goodman & Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. 1997).

1.5.2 Le polypeptide vasoactif intestinal

Le polypeptide vasoactif intestinal (VIP) est un peptide constitué de 28 acides aminés. Initialement, le VIP a été extrait des poumons de porc et a subséquemment été purifié à partir du duodénum porcin. Il est maintenant bien connu que le VIP est largement distribué dans les systèmes nerveux central et périphérique de l'homme et plusieurs espèces animales. Ce peptide est aussi présent dans la circulation sanguine, mais plusieurs

évidences suggèrent que le VIP fonctionne comme neurotransmetteur ou neuromodulateur plutôt que comme une hormone classique.

Le VIP a des propriétés relaxantes au niveau des différents muscles lisses. Ce dernier produit une vasodilatation de plusieurs lits vasculaires incluant, les lits splanchnique, pulmonaire, coronarien, rénal et cérébral. Le VIP induit aussi une diminution de la pression artérielle (dû à son effet vasodilatateur) et une augmentation du débit cardiaque. En plus de ses effets relaxants sur les muscles lisses vasculaires, le VIP relaxe aussi certains muscles lisses non-vasculaires notamment ceux de l'arbre trachéo-bronchique et ceux du tractus gastro-intestinal. D'autre part, le VIP induit une augmentation de la sécrétion d'eau et d'électrolytes par les intestins, promeut la glycogénolyse hépatique, cause l'excitation neuronale et stimule la relâche de plusieurs hormones comme l'hormone de croissance, la prolactine et la rénine (revue dans Katzung, 6th ed., 1995).

1.5.3 Les endothélines

L'endothélium est une source d'une variété de substances ayant des propriétés vasodilatatrices ou vasoconstrictrices. Parmi ces substances, un puissant vasoconstricteur peptidique a été isolé, purifié, séquencé et cloné à partir d'une culture de cellules endothéliales aortiques (Masaki *et al.*, 1987). Ce peptide a ensuite été nommé endothéline (Yanagisawa *et al.*, 1988).

L'endothéline est une peptide de 21 acides aminés qui contient 2 ponts disulfures. Trois différentes isoformes ont été identifiées et nommées endothéline (ET)-1, ET-2 et ET-

3. Ces substances sont largement distribuées dans le corps humain. De fortes concentrations se retrouvent au niveau des poumons, dans les reins, dans le cœur, dans l'hypothalamus et dans la rate (Firth et Ratcliffe, 1992 ; Ujiie *et al.*, 1992 ; Suzuki *et al.*, 1993 ; Lee *et al.*, 1990a,b,c ; Bloch *et al.*, 1989a,b). L'endothéline est un agent contractile des muscles lisses. Celle-ci induit donc des vasoconstrictions de la plupart des lits vasculaires. L'administration de l'endothéline par voie intraveineuse induit une diminution passagère de la pression artérielle qui se transforme ensuite en une augmentation prolongée de celle-ci. L'endothéline contracte aussi les muscles lisses non-vasculaires ; par exemple, celle-ci contracte les muscles de la trachée, de l'utérus et des intestins (Ninomiya *et al.*, 1992 ; Lin et Lee, 1990 ; Svane *et al.*, 1993). De plus, l'endothéline possède aussi d'autres actions incluant un effet inotrope positif au niveau du cœur, la stimulation de la relâche de l'hormone natriurétique auriculaire et la prolifération des muscles lisses et d'autres types cellulaires. Deux types de récepteurs pour l'endothéline ont été identifiés, ET_A et ET_B, qui sont présents dans plusieurs tissus et organes et qui médient les différents effets de l'endothéline (Rubanyi et Polokoff, 1994).

1.6 MODÈLE D'HYPERREACTIVITÉ PULMONAIRE

1.6.1 L'inflammation

L'asthme est une maladie qui comprend deux composantes principales soit l'hyperreactivité bronchique et l'inflammation pulmonaire. L'inflammation est une réaction locale de l'organisme contre un agent pathogène ou un état anormal, caractérisée par la rougeur, la chaleur, la douleur et la tuméfaction. Ces caractéristiques sont le résultat des

différents mécanismes initiés lors d'une réaction inflammatoire. À cette réaction participent plusieurs molécules (dont certaines sont discutées plus haut) ainsi que plusieurs types cellulaires ayant migré à l'endroit d'inflammation. Par exemple, au niveau du poumon, les mécanismes inflammatoires dans l'asthme comportent plusieurs étapes. Il y a d'abord initiation de la réponse inflammatoire. Plusieurs types cellulaires ont été identifiés comme déclencheurs possibles du processus inflammatoire. Les mastocytes qui sont présents dans la lumière des voies respiratoires ainsi que dans la sous-muqueuse peuvent agir comme cellules effectrices primaires. Ces cellules possèdent des récepteurs aux IgE (immunoglobuline E) à haute affinité. Lorsque ces récepteurs sont activés par la réexposition à un allergène (réponse IgE), ils mènent à la relâche de médiateurs inflammatoires comme les leucotriènes et l'histamine par les mastocytes (Schleimer *et al.*, 1986). D'autres types cellulaires comme les macrophages alvéolaires et les éosinophiles ont aussi été impliqués dans l'initiation de la réponse inflammatoire, car ces derniers peuvent aussi être activés par des récepteurs aux IgE sur leur surface menant alors à la libération du contenu de leurs granules et à l'activation du métabolisme de l'acide arachidonique (Joseph *et al.*, 1983 ; Capron *et al.*, 1984). Les granules de sécrétion de ces cellules contiennent des substances telles la β -glucuronidase et l'éosinophil peroxydase. Suite à cette initiation, la réponse inflammatoire proprement dite débute.

1.6.2 Cellules inflammatoires

Afin de pouvoir participer à la réaction inflammatoire, les types cellulaires impliqués doivent se retrouver au site de l'inflammation. Dans l'asthme ces cellules doivent

migrer vers les poumons. Il y a d'abord l'étape de la chimotaxie et émigration des cellules inflammatoires au niveau du système respiratoire. La présence de cellules inflammatoires telles les éosinophiles, neutrophiles et lymphocytes dans les parois ainsi que dans la lumière des voies respiratoires de sujets asthmatiques implique leur migration dans la microcirculation et leur éventuelle migration à travers l'endothélium par ces cellules suivant un gradient de molécules chimotactiques. Par exemple, le leucotriène B₄ est un puissant facteur chimotactique pour les cellules inflammatoires, surtout pour les neutrophiles (Ford-Hutchinson *et al.*, 1980). Pour les éosinophiles, un autre facteur chimotactique important le facteur d'activation plaquettaire (PAF) a été identifié (Wardlaw *et al.*, 1986).

L'augmentation de la perméabilité capillaire (endothéliale) de la microcirculation est une autre caractéristique de la réponse inflammatoire. Dans les voies respiratoires ceci est accompagné par une augmentation de la perméabilité épithéliale. Plusieurs médiateurs inflammatoires comme l'histamine, les leucotriènes, et le PAF sont de puissants agents perméabilisants et peuvent agir directement sur les cellules endothéliales causant l'ouverture des jonctions intercellulaires permettant la fuite de protéines plasmatiques dans l'espace interstitiel des voies respiratoires (Chung *et al.*, 1990). Cette relâche de médiateurs inflammatoires est une autre caractéristique importante de la réponse inflammatoire. Une grande variété de ce type de médiateur peut être relâchée lors de l'inflammation. La source de ces médiateurs inclut les cellules inflammatoires comme les éosinophiles et les lymphocytes qui ont été recrutées, les cellules résidentes comme les cellules endothéliales, les macrophages, les mastocytes. Les médiateurs libérés ont des effets sur des cellules

cibles comme les cellules musculaires lisses causant des bronchoconstrictions, sur les cellules épithéliales causant un dommage épithélial (shedding), sur les muqueuses causant une augmentation de la sécrétion de mucus, sur les vaisseaux sanguins causant un engorgement et les fuites de plasma et sur les cellules nerveuses de l'épithélium causant la relâche de neuropeptides. De plus, ces médiateurs peuvent agir sur les cellules qui les libèrent pour amplifier davantage la réponse.

Dans l'asthme, on retrouve des changements au niveau de l'épithélium. Le dommage épithélial est une caractéristique propre du processus inflammatoire dans les muqueuses (Laitinen *et al.*, 1985). Des effets cytotoxiques directs sur l'épithélium des protéines relâchées par les éosinophiles, comme la protéine basique majeure (« major basic protein », MBP) et l'éosinophile peroxydase ont été impliquées (Motojima *et al.*, 1989). Suite à la perte de segments épithéliaux et de la perte du facteur relaxant dérivé de l'épithélium (« epithelium-derived relaxing factor »), il peut y avoir exposition de nerfs sensitifs qui peuvent propager le processus inflammatoire suivant des réflexes axonaux locaux (Barnes, 1986).

1.6.3 Aspect immunologique

Les réponses allergiques ont été divisées en quatre catégories basées sur les mécanismes immunologiques impliqués, soit les réactions de type I, II, III et IV. Les réactions allergiques de type I, ou anaphylactiques, sont médiées par les anticorps immunoglobulines E (IgE) chez l'homme et chez plusieurs autres espèces. La portion Fc de la IgE peut se lier à des récepteurs sur les mastocytes et les basophiles. Lorsque la partie Fab de l'anticorps se lie alors à l'antigène plusieurs médiateurs (histamine, leucotriènes, et

prostaglandines) sont relâchés causant une vasodilatation, l'oedème et la réponse inflammatoire. Il est à noter que chez la souris c'est la sérotonine qui est relâchée par les mastocytes ainsi ayant les mêmes rôles que l'histamine. Les principales cibles de ce type de réaction sont le tractus gastro-intestinal (allergies à la nourriture), la peau (urticaire et dermatite atopique), le système respiratoire (rhinites et asthme) et le système vasculaire (choc anaphylactique).

Les réactions de type II, ou cytolytiques, sont des réactions médiées par les anticorps IgG et IgM et sont attribuées à leur capacité d'activer le complément. Les tissus cible principaux pour ce type de réaction sont les cellules du système sanguin, par exemple, l'anémie hémolytique induite par la pénicilline (les anticorps se lient aux globules rouges et diminuent leur durée de vie par des mécanismes impliquant l'hémolyse ou la phagocytose).

Les réactions de type III, ou réaction d'Arthus, sont médiées principalement par les anticorps IgG. Le mécanisme implique la formation d'un complexe anticorps-antigène qui active subséquemment le complément. Ces complexes sont déposés dans l'endothélium vasculaire où une réponse inflammatoire destructive survient (relâche de protéases, collagénases et substances vasoactives par les basophiles, neutrophiles et plaquettes causant une rupture de la paroi vasculaire et une hémorragie accompagnée par une nécrose locale du tissu).

Les réactions de type IV, ou d'hypersensibilité retardée, sont médiées par des lymphocytes T et macrophages sensibilisés. Lorsque ces cellules viennent en contact avec

un antigène, une réaction inflammatoire est générée par la production de lymphokines et l'influx subséquent de neutrophiles et de macrophages.

Le développement d'un modèle d'asthme allergique chez l'animal implique l'induction de la réaction allergique de type I (anaphylactique) où il y a sensibilisation et production d'IgE comme chez l'homme. L'ovalbumine est l'allergène de choix pour ce type de réaction. Cette protéine est utilisée depuis les années trente pour induire des réactions allergiques anaphylactiques (type I). Il a été démontré que la sensibilisation à l'ovalbumine chez la souris induisait la production d'IgE spécifiques. De plus, la réexposition d'un animal sensibilisé à cette protéine causait une activation des cellules inflammatoires présentes et le recrutement amplifié de d'autres types cellulaires dans les voies respiratoires.

Les objectifs de ce travail étaient donc d'évaluer, *in vitro*, les effets de plusieurs agonistes pouvant être impliqués dans l'asthme incluant des neuromédiateurs, des prostanoïdes et des peptides bioactifs au niveau des voies respiratoires isolées de souris, ainsi que d'évaluer leur puissance relative sur ces tissus. De plus, cette étude avait pour objectif le développement et la caractérisation d'un modèle murin d'hyperréactivité pulmonaire *in vivo*.

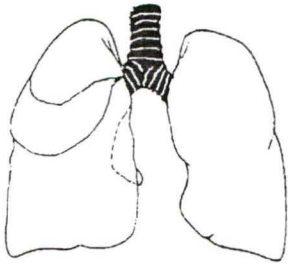
MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 PRÉPARATIONS TISSULAIRES

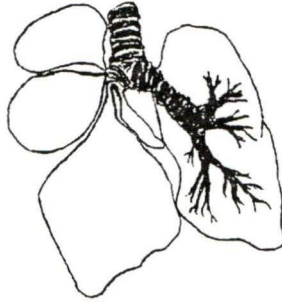
Des souris CD-1 (20 - 25 g ; Charles River, St-Constnt, PQ, Canada - fournisseur de toutes les souches de souris utilisées dans cette étude) sont anesthésiées avec une injection intra-péritonéale de sodium de pentobarbitone (50 mg Kg^{-1}). Une incision est alors faite au niveau de l'abdomen pour permettre l'exsanguination suite à la coupure de l'aorte abdominale. La cage thoracique est exposée en enlevant la peau qui la recouvre. Le diaphragme est retiré et la cavité thoracique est ensuite ouverte de chaque côté du sternum en convergeant vers la trachée. Lorsque le système cardio-pulmonaire est exposé, la trachée est coupée à sa partie supérieure. L'extraction du système pulmonaire doit être faite de façon très délicate pour éviter le dommage aux tissus. Lors de la séparation de la trachée des tissus la retenant en place, celle-ci doit être retirée en coupant les tissus derrière tout en évitant de l'étirer à excès. Lorsque la trachée est libre, les tissus n'appartenant pas au système pulmonaire sont utilisés pour retirer l'arbre trachéo-bronchique et les lobes pulmonaires. Le cœur est ensuite disséqué. Le système pulmonaire est immédiatement plongé dans une solution physiologique de Krebs. Les tissus adipeux et conjonctifs recouvrant la trachée et les bronches sont disséqués afin visualiser l'isthme trachéal. Les trois lobes de parenchyme pulmonaire supérieurs (les trois lobes les moins volumineux) du côté droit sont disséqués. Une incision au niveau de l'isthme trachéal est faite pour isoler la trachée des bronches supérieures. Chacune de ces dernières est ensuite isolée du lobe de parenchyme pulmonaire restant (Figure 7). Les tissus isolés sont enfin nettoyés de tout tissu conjonctif et adipeux restant. Les bronches inférieures sont préparées en introduisant

Figure 7 : Préparation des tissus pulmonaires de souris. Le système pulmonaire est d'abord extrait de la cage thoracique et nettoyé de tout tissus adipeux et conjonctif en excès. Les lobes de parenchyme pulmonaire sont ensuite identifiés et les trois lobes les plus petits du côté droit sont disséqués. La bronche supérieure droite est isolée en coupant d'abord à l'intersection de celle-ci et du lobe de parenchyme pulmonaire restant et ensuite à l'intersection avec la trachée. Le lobe de parenchyme pulmonaire gauche est conservé pour les expériences et, ensuite, la trachée isolée et nettoyée. Afin d'isoler les bronches inférieures, une fine tige est insérée dans la lumière de la bronche supérieure jusqu'à travers le lobe de parenchyme pulmonaire. Ce dernier est disséqué et la bronche inférieure est isolée de la bronche supérieure.

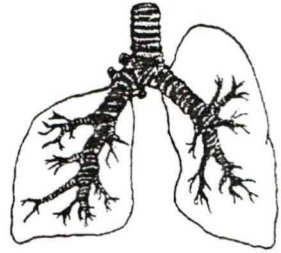
A



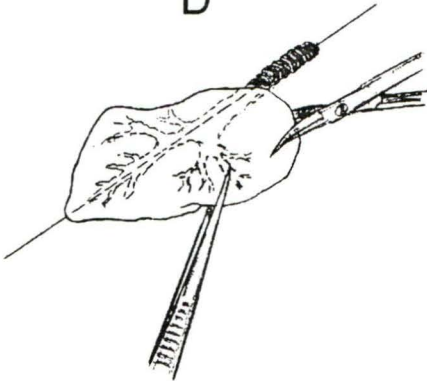
B



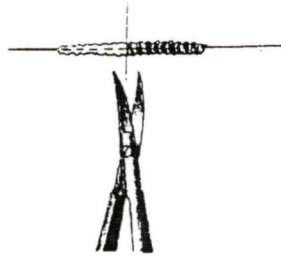
C



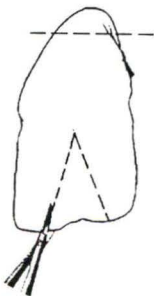
D



E



F



G

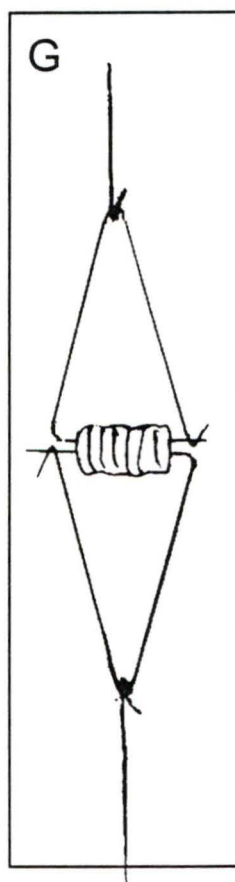
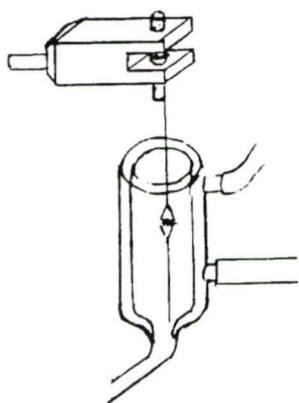


délicatement une fine tige métallique dans la lumière de la bronche supérieure et en poursuivant l'insertion (pénétration dans la lumière de la bronche inférieure) de la tige jusqu'à travers l'apex du lobe de parenchyme pulmonaire. Cette tige sert de support pour la dissection du parenchyme pulmonaire autour de la bronche inférieure. Les bronches supérieures utilisées dans cette étude sont toujours celles de droite et les lobes de parenchyme pulmonaire sont toujours ceux de gauche. De plus, les bronches inférieures des deux côtés sont utilisées dans l'étude.

2.1.1 Anneaux de trachées et de bronches supérieures et inférieures

La trachée et les bronches supérieures et inférieures sont préparées selon la méthode décrite par Towart (1982). En bref, les tissus gardent leur forme tubulaire originale. Au contraire du cobaye où on peut utiliser plusieurs anneaux d'un même tissu, les préparations tissulaires de souris doivent comprendre le tissu entier pour les essais, ceci en raison de leur petite taille. Deux supports en acier inoxydable de forme triangulaire (Figure 8) sont insérés dans la lumière du tissu pour permettre de le relier au transducteur de force. Ceci permet d'enregistrer les contractions ou relaxations circulaires de la trachée et des bronches supérieures et inférieures. Pour les expériences où la couche de cellules épithéliales doit être enlevée, ceci est fait en introduisant un papier humidifié de forme cylindrique dans la lumière du tissu avec un mouvement de rotation. Ceci enlève ou endommage la majorité des cellules épithéliales. Idéalement, des tissus d'un même type sont placés en série dans le système de superfusion en cascade. Lorsque plusieurs tissus différents sont utilisés, il est important de modifier la position des tissus dans une même

Figure 8 : Installation des tissus préparés en anneaux sur des supports métalliques de forme triangulaire (« crochets »). Les tissus préparés en anneaux, c'est-à-dire la trachée, les bronches supérieures et inférieures sont installés sur des crochets afin de les relier aux transducteurs de force. Un crochet est d'abord glissé dans la lumière du tissu et est fermé, ensuite, un autre crochet est glissé dans la lumière du tissu dans la direction opposée au premier et est aussi fermé. Les crochets sont ensuite reliés aux transducteurs de force à l'aide de fils. Ces transducteurs sont reliés à un physiographe. Le parenchyme pulmonaire est préparé en bandelette en forme de « V » où chaque extrémité est reliée au transducteurs à l'aide de fils.



série d'une expérience à l'autre afin d'éviter toute interférence de la relâche possible de médiateurs de chacun des tissus.

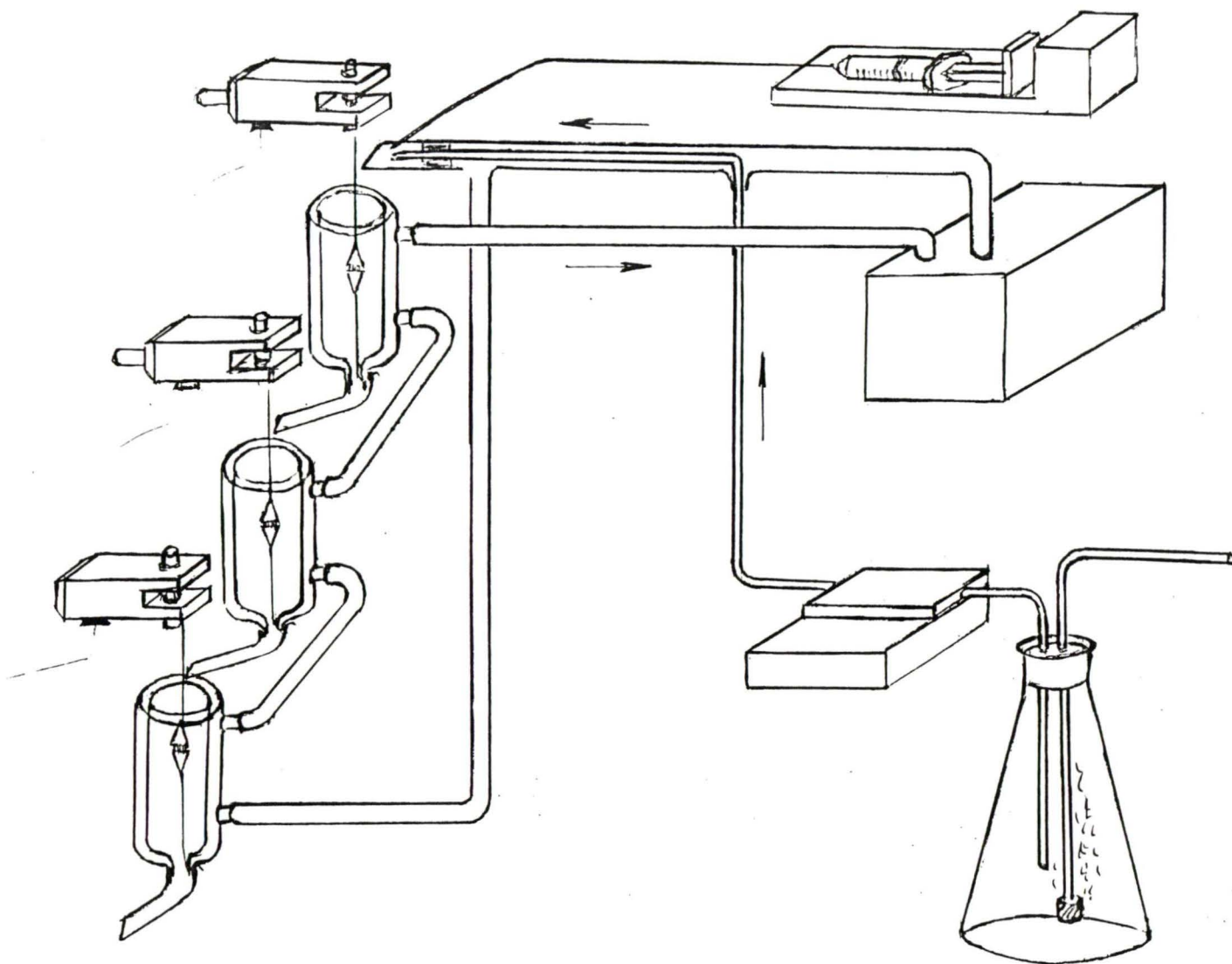
2.1.2 Bandelettes de parenchyme pulmonaire

Chez la souris, le lobe de parenchyme pulmonaire doit être utilisé de façon quasi intégrale dû à son faible volume. Pour les expériences de cette étude, le lobe de parenchyme gauche est utilisé. En premier lieu, la bronche interne est disséquée en coupant à la surface du lobe. Ensuite, le lobe est coupé au centre jusqu'au trois quarts de la distance à l'apex pour donner la forme d'un « V » (Figure 8). L'apex est ensuite enlevé. Finalement, chaque bras du « V » est attaché à double noeud avec une ficelle pour permettre de le relier au transducteur de force.

2.2 SYSTÈME DE SUPERFUSION EN CASCADE

Le système de superfusion en cascade est constitué de bains à organes isolés montés en série à doubles parois entre lesquelles circule un liquide thermostaté (eau à 37°C) pour maintenir l'environnement des tissus constant et aussi près de la physiologie que possible. D'autre part, des tubes à l'intérieur desquels circule aussi le liquide thermostaté contiennent un autre tube qui amène une solution physiologique sur le dessus de la cascade. Celle-ci est donc réchauffée par le liquide thermostaté à 37°C et coule sur la surface des tissus placés dans les bains. Ainsi, la solution physiologique ayant superfusé le premier tissu se retrouve sur le deuxième tissu et finalement sur le troisième tissu (Figure 9).

Figure 9 : Système de superfusion en cascade. Le système de superfusion en cascade consiste en baignoires à tissus réchauffés à l'aide d'un liquide thermostaté placés en série. Un liquide physiologique coule sur le dessus de la cascade atteignant le premier bain qui contient un tissu isolé. Ce même liquide ayant superfusé le premier tissu descend la cascade pour atteindre le second tissu et ainsi de suite. Le liquide physiologique est pompé d'un réservoir oxygéné à l'aide d'une pompe à débit variable ajustée à 5 ml/min. Le liquide thermostaté circule dans un circuit fermé à travers les baignoires en passant par une pompe chauffante ajustée à 37°C. Dans certains cas, des antagonistes ou inhibiteurs sont infusés sur le dessus de la cascade à l'aide de seringues et d'une pompe à seringues à débit réglable.



La solution physiologique utilisée pour superfuser les tissus dans cette étude est la solution physiologique de Krebs ayant la composition suivante (mM): NaCl, 118.07 ; KCl, 4.7 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.18 ; KH_2PO_4 , 1.18 ; glucose, 11.1 ; NaHCO_3 , 25 ; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2.51. Celle-ci est oxygénée pendant toute la durée de l'expérience avec un mélange d'oxygène et de gaz carbonique (95% : 5%). Un débit de 5 ml/min est utilisé pour superfuser les tissus avec la solution physiologique. L'injection des différents agonistes se fait directement dans la solution physiologique à la sortie de celle-ci sur le dessus de la cascade. Certains antagonistes ou inhibiteurs sont dissous et ajoutés directement à la solution physiologique ou sont infusés à la sortie de la solution physiologique sur le dessus de la cascade à l'aide d'une pompe à infusion munie d'une seringue contenant l'antagoniste ou l'inhibiteur. Dans certaines expériences, les tissus sont précontractés avec un spasmogène (carbachol), celui-ci est infusé à l'aide d'une pompe à infusion à débit réglable sur le dessus de la cascade ou au niveau de la cascade désiré.

Afin de pouvoir enregistrer les contractions ou relaxations isométriques induites par les divers agonistes, les tissus sont reliés à des transducteurs de force Grass (modèle FT03C) qui transforment le mouvement mécanique du tissu en courant électrique. La réponse est amplifiée et enregistrée par un physiographe de marque Grass (modèle 7D).

2.3 SYSTÈME DE BAINS CLASSIQUES

Le système de bains classiques est un système semblable au système en cascade pour ce qui est des bains à doubles parois où circule un liquide thermostaté. Par contre, la

disposition des baignoires est différente de celle du système en cascade. Dans le système de baignoires classiques, les baignoires sont disposées en parallèle et sont donc isolées l'une par rapport à l'autre. Le baignoire est rempli (5 ml) de liquide physiologique à 37°C et le tissu baigne dans ce liquide pour une période désirée. L'oxygénation du liquide physiologique se fait au niveau du récipient qui le contient ainsi qu'au niveau du baignoire lui-même. Ce type de système permet d'augmenter le temps de contact entre un agoniste et les récepteurs sur le tissu. De plus, ce système permet l'incubation du tissu avec un antagoniste ou inhibiteur pour une période désirée. Il est à noter que le liquide physiologique ayant été en contact avec un tissu ne vient jamais en contact avec un autre tissu.

2.4 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL POUR LES EXPÉRIENCES *IN VITRO*

Lorsque les tissus sont installés dans les baignoires du système de superfusion en cascade et reliés aux transducteurs, une tension initiale leur est appliquée, soit 1 g pour la trachée et 0.5 g pour les bronches supérieures et inférieures. Une période d'équilibration des tissus de 60 minutes suit l'application de la tension initiale. La réactivité des préparations tissulaires est ensuite évaluée selon la contraction induite par une dose bolus de 2 µg de carbachol. Lorsqu'un tissu ne répond pas adéquatement à cette dose, il est rejeté. Les divers agonistes sont ensuite injectés dans la superfusion sur les tissus en tonus basal. Par contre, certains agonistes ne suscitent pas d'augmentations de tension, mais peuvent relaxer le tissu. Dans ces cas, les tissus sont précontractés avec un spasmogène (carbachol ; 15 et 30 ng ml⁻¹, trachée et bronches respectivement) à l'aide d'une pompe à infusion qui infuse le spasmogène directement dans la superfusion de liquide physiologique. L'infusion doit

induire une contraction submaximale à peu près équivalente au ED_{50} du spasmogène. Les injections d'agonistes relaxants sont faites lorsque l'infusion du spasmogène a induit une contraction stable et soutenue (plateau) du tissu. Suite à l'observation de l'effet, l'infusion est arrêtée de façon à permettre aux tissus de retourner à la ligne de base avant la prochaine précontraction. Dans les cas où un antagoniste ou inhibiteur est administré, celui-ci est aussi infusé à l'aide d'une pompe à infusion directement dans la superfusion de liquide physiologique de 15 à 30 minutes avant l'injection d'agonistes.

Pour les expériences dans les bains classiques, un protocole semblable est utilisé. Une période d'équilibration de 60 minutes est respectée avec des lavages (vidange et remplissage du bain) du tissu à toutes les 15 minutes. Suite à cette période d'équilibration, la réactivité des tissus est évaluée avec une injection de 4 μ M de carbachol. De la même façon, lorsqu'un tissu ne répond pas adéquatement à cette dose, celui-ci est rejeté. Ensuite, les agonistes ou antagonistes et inhibiteurs (15 à 30 min. avant l'agoniste) sont injectés directement dans les bains. Pour observer l'effet d'agonistes relaxants, un spasmogène (carbachol, 4 μ M) est ajouté au bain. Le temps d'atteinte d'un plateau stable est respecté et l'agoniste relaxant est injecté.

2.5 MODÈLE D'HYPERREACTIVITÉ PULMONAIRE *IN VIVO*

2.5.1 Sensibilisation des souris

Des souris BALB/c (20 - 25 g ; Charles River, St-Constnt, PQ, Canada) sont sensibilisées avec une injection intrapéritonéale de 0.5 ml d'antigène précipité à l'alum

contenant 8 μg d'ovalbumine (Grade II ; OVA) adsorbée à 2 mg de gel d'hydroxyde d'aluminium (alum) dans la saline.

Un rappel du mélange alum-OVA est administré cinq jours plus tard. Les souris témoins non-sensibilisées reçoivent le gel d'alum seulement.

2.5.2 Bronchoprovocation des souris sensibilisées

Après 12 jours, les souris sont exposées à l'antigène en aérosol. Celles-ci sont exposées à une solution d'ovalbumine (0.5 % p/v) en aérosol pendant 1 heure deux fois avec une intervalle de 4 heures entre les expositions. L'aérosol est produit avec un nébulisateur ultra-sonique.

Vingt quatre heures après la première exposition, les souris sont anesthésiées avec une solution de kétamine/xylazine (80 / 10 mg Kg^{-1} i.p. ou i.m.).

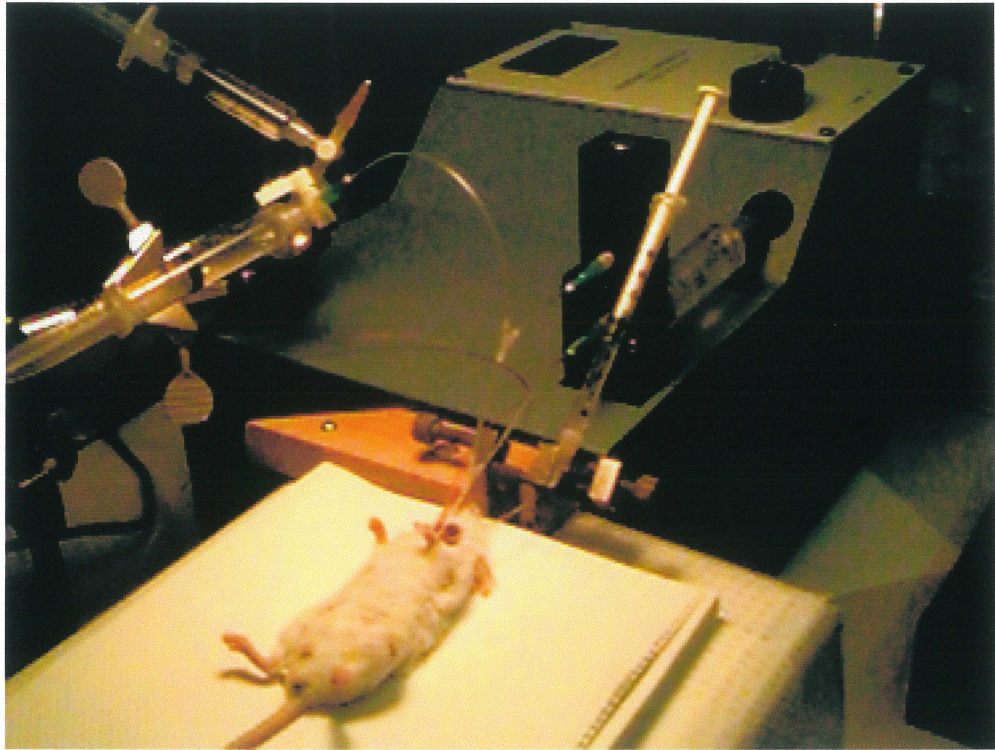
2.5.3 Chirurgies et canulations

Afin d'effectuer la canulation de la veine jugulaire et l'artère carotide, une section d'environ 1 cm^2 de peau est enlevée au dessus de la trachée. La veine jugulaire est localisée en surface. Celle-ci est isolée de façon très délicate avec les pinces. Ceci est fait avec des mouvements d'ouverture des pinces autours du vaisseau pour le séparer des muscles et du tissu conjonctif. Lorsque le vaisseau est isolé, deux fils sont introduits sous celui-ci, un à la partie proximale et l'autre à la partie distale pour arrêter la circulation. Le fil positionné sous la partie proximale est attaché à double noeud, tandis que le fil situé sous

la partie distale est tendu avec une pince hémostatique. Une incision de la paroi du vaisseau est faite à l'aide de très fins ciseaux et une canule (PE-10) se terminant en biseau est introduite dans l'incision. La canule est ensuite fixée en place en l'attachant avec le fil qui retient la circulation. Ensuite, l'artère carotide est localisée, un peu plus en profondeur à côté de la trachée. Le vaisseau est isolé de la même façon que le précédent. Par contre, trois fils sont nécessaires pour cette chirurgie. Un fil est placé sous la partie proximale et est attaché à double noeud ; un second fil est placé à la partie distale pour bloquer la circulation (tendu avec des pinces hémostatiques) et un troisième fil est placé devant le fil à la partie distale et un noeud relâché est préparé. Une incision du vaisseau est faite et une canule (PE-10) est délicatement insérée. Celle-ci est rapidement fixée en place en serrant le fil ayant le noeud préparé et le fil retenant la circulation est retiré. En dernier lieu, la trachée est exposée en ouvrant les muscles qui la recouvrent avec des pinces. Une incision est faite et une canule trachéale est insérée et fixée avec un fil.

La canule reliée à la veine jugulaire est connectée à un transducteur de pression Statham Gould (modèle P23 1D) pour les injections intraveineuses. La canule reliée à l'artère carotide est aussi connectée à un transducteur de pression du même type pour le suivi de la pression artérielle. La canule trachéale est reliée à un ventilateur mécanique Harvard Apparatus (modèle 687) pour la ventilation mécanique de la souris et l'enregistrement de la pression d'insufflation pulmonaire (Figure 10).

Figure 10 : Système de mesure *in vivo*. Ce système consiste en transducteurs de pression reliés à un physiographe et d'un respirateur pour souris. La veine jugulaire est canulée permettant les injections intraveineuses. L'artère carotide est canulée et reliée à un transducteur de pression permettant le suivi de la pression artérielle. La trachée est canulée et reliée à la fois au respirateur et à un transducteur de pression permettant la mesure de la pression d'insufflation pulmonaire.



2.6 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL POUR LES EXPÉRIENCES *IN VIVO*

Les souris sont ventilées mécaniquement à une fréquence de 140 respirations par minute et à un volume forcé de 4 ml Kg⁻¹. Afin de supprimer la respiration spontanée, toutes les souris reçoivent une injection de chlorure de succinylcholine (8 mg Kg⁻¹, sous-cutannée). La pression d'insufflation pulmonaire et la pression artérielle sont enregistrées sur un physiographe Grass (modèle 7D) en passant par des transducteurs de pression selon la méthode de Könzett et Rossler (1940).

Une période de stabilisation de 15 minutes est respectée et une injection intraveineuse d'une solution d'ovalbumine 1 mg Kg⁻¹ est administrée aux souris sensibilisées et aux souris témoins. Une période de réaction de 15 minutes est respectée et ensuite débutent les injections de carbachol (1 à 400 µg Kg⁻¹). Lorsqu'un antagoniste ou inhibiteur est administré, celui-ci est injecté de façon intraveineuse 5 minutes avant l'injection d'ovalbumine.

2.7 SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES UTILISÉES

Les composés suivants ont été utilisés : le carbachol (carbamylcholine chloride ; Figure 11a), l'acetylcholine (acetylcholine hydrochloride ; Figure 11b), la sérotonine (5-hydroxytryptamine ; Figure 11c) l'arg-vasopressine (Figure 12), l'ovalbumine (Grad II), l'antifoam B (Sigma Chemical Company, Mississauga, Ont., Canada); le composé U-44069 (9,11-dideoxy-9 α , 11 α -epoxymethano-prostaglandin F_{2 α} ; Figure 13a), la prostaglandine E₂ (Figure 13b), la prostaglandine F_{2 α} (Figure 13c) (Upjohn Company, Kalamazoo, Mi, USA); la prostaglandine D₂ (Figure 13d) (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, Mi, USA); les

leucotriènes A₄, B₄, C₄, D₄, E₄, dont certains sont sous forme méthylester (Figure 14 a,b,c,d,e), le composé L-655,240 (Figure 15a) (Merck-Frosst Montreal, PQ, Canada) ; la succinylcholine (succinylcholine chloride ; Figure 15b) (Burroughs Wellcome Inc., Kirkland, Québec, Canada) ; le gel d'hydroxide d'aluminium (Rehydrgel) (Reheis Inc, Berkley Heights, NJ, USA) ; le composé CV-3988 (Figure 15 c) (Takeda Chemical Industries, Japan).

Dans certains cas, les leucotriènes A₄, C₄, D₄ et E₄ sont fournis sous forme de méthylester. Les peptidoleucotriènes sont hydrolysés à température de la pièce pendant une heure avec une solution de Na₂CO₃ 5% et dilués à la concentration voulue avec de l'eau bidistillée et filtrée à l'aide d'un filtre nanopure (eau nanopure). Le leucotriène A₄ est hydrolysé avec une solution 1 : 1 d'éthanol et NaOH (0.1 N) pendant 30 minutes à la température de la pièce et 30 minutes dans la glace avant l'utilisation. Le leucotriène B₄ est utilisé directement suite à la concentration voulue avec de l'eau nanopure. La concentration et la pureté des solutions stock de leucotriènes est évaluée par spectrophotométrie dans l'ultra-violet (U.V.) en mesurant l'absorbance à 280 nm pour les leucotriènes A₄, C₄, D₄ et E₄ et à 270 nm pour le leucotriène B₄. Les prostaglandines PGE₂, PGD₂ et PGF_{2α} sont dissoutes dans un volume minimal d'éthanol et diluées avec de l'eau nanopure. Le composé U-44069 est dilué directement dans l'eau nanopure.

Les antagonistes et inhibiteurs sont préparés de la façon suivante : l'inhibiteur de la cyclooxygénase, indométacine est dissoute dans un volume minimal d'éthanol et diluée à la concentration voulue avec de l'eau nanopure contenant une pue de bicarbonate ; l'antagoniste des récepteurs EP₄ des prostaglandines est dissous dans une solution de 10 % bicarbonate et dilué avec de l'eau nanopure pour avoir une solution ayant une concentration finale de 1 % de

bicarbonate ; l'antagoniste de PAF, CV-3988 est dissous dans la saline en chauffant jusqu'à dissolution; l'antagoniste du thromboxane A₂, L-655,240 est dissous dans la saline en chauffant jusqu'à dissolution ; l'inhibiteur de la NO synthase, L-NAME est dissous dans la saline ; l'antagoniste EP et FP, PPP est dissous dans la saline ; l'inhibiteur de la cyclooxygénase, Naproxène est dissous dans la saline.

2.8 STATISTIQUES

Tous les résultats sont exprimés sous forme de moyennes plus ou moins l'erreur-type. La significativité statistique des résultats est évaluée par le test T de Student (Sigma Plot, Jandel Scientific Software). Lorsque la probabilité est inférieure à 0.05 ($P < 0.05$) le résultat est considéré comme étant statistiquement significativement différent. De plus, les résultats sont des moyennes d'au moins 6 expériences ($n = 6$).

Figure 11 : Structures moléculaires des neuromédiateurs ; le carbachol (A), l'acétylcholine (B) et la sérotonine (C).

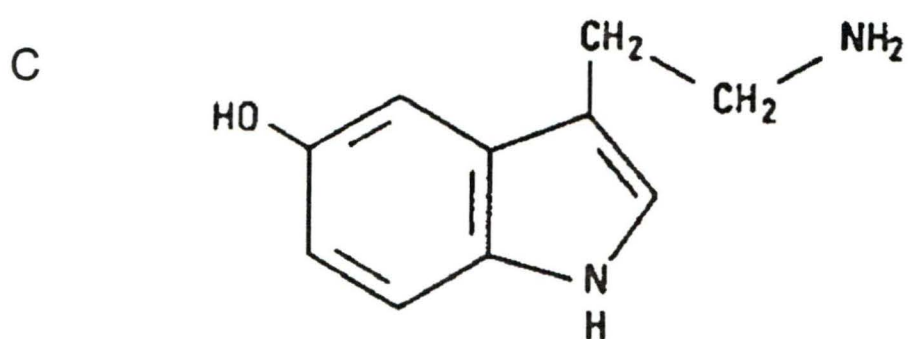
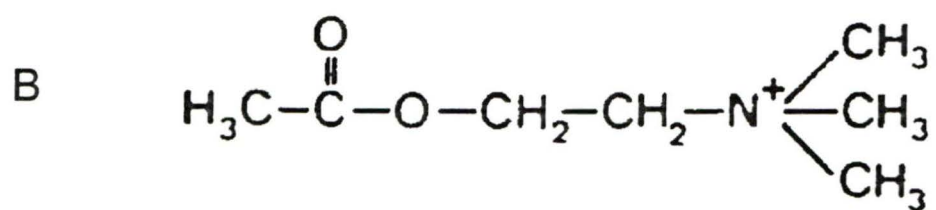
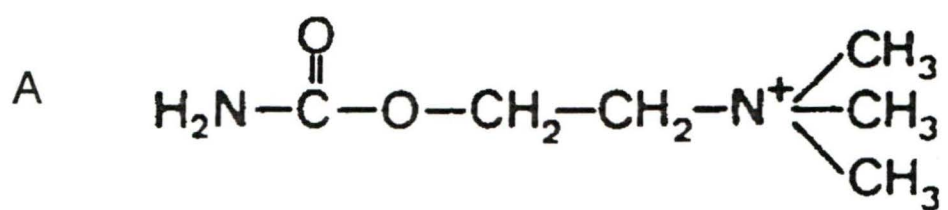
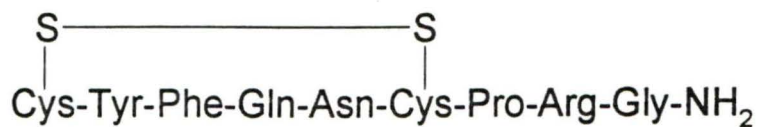


Figure 12 : Structures moléculaires des peptides bioactifs ; la vasopressine (A), le polypeptide vasoactif intestinal (VIP ; B) et les endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3 ; C).

A



B

His-Ser-Asp-Ala-Val-Phe-Thr-Asp-Asn-Tyr-Thr-Arg-
Leu-Arg-Ays-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Asn-
Ser-Ile-Leu-Asn-NH₂

C

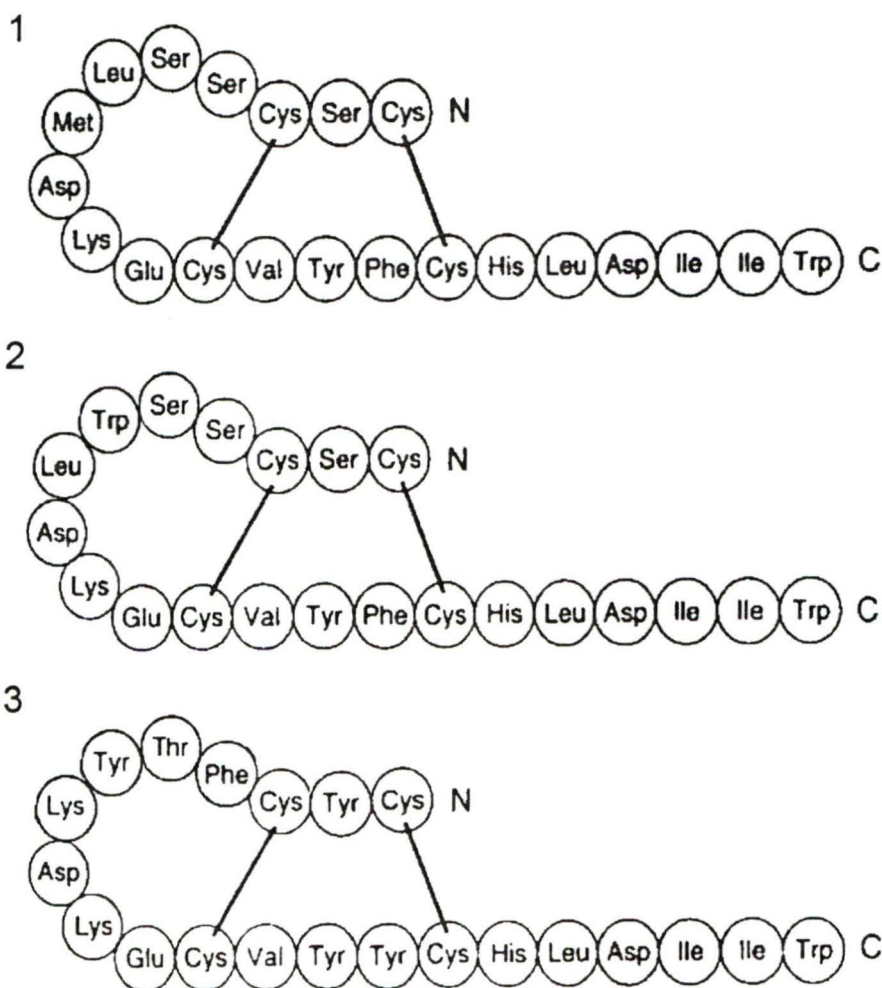
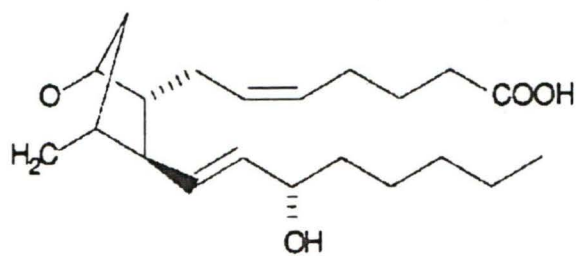
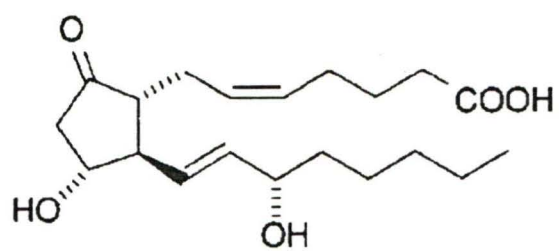


Figure 13 : Structures moléculaires des prostanoïdes ; l'analogue du thromboxane A_2 le composé U-44069 (A), la prostaglandine E_2 (B), la prostaglandine D_2 (C) et la prostaglandine $F_{2\alpha}$ (D).

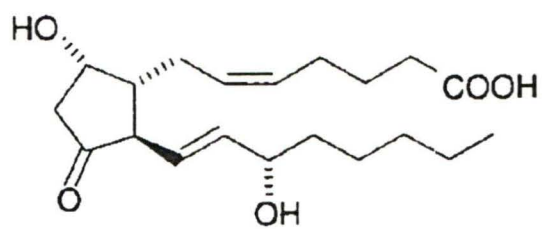
A



B



C



D

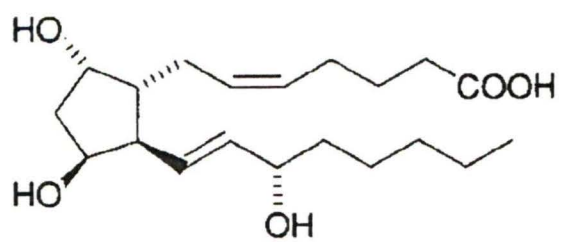


Figure 14 : Structures moléculaires des leucotriènes ; le leucotriène A_4 (A), le leucotriène B_4 (B), le leucotriène C_4 (C), le leucotriène D_4 (D) et le leucotriène E_4 (E).

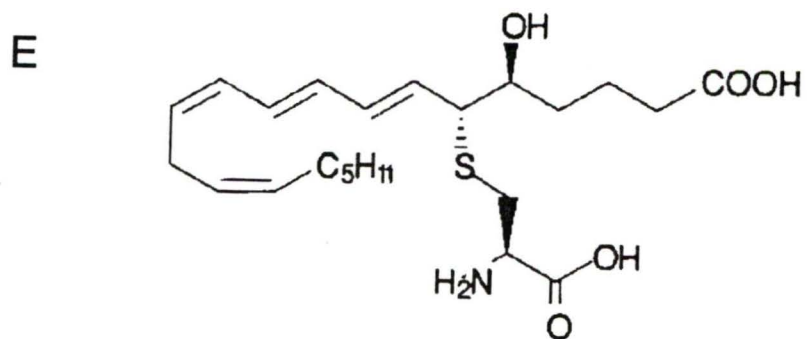
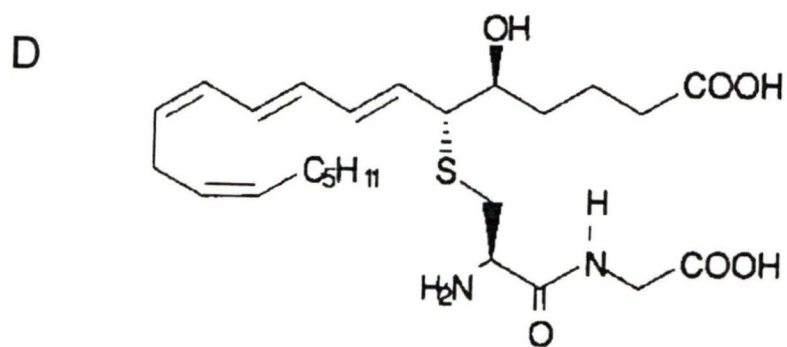
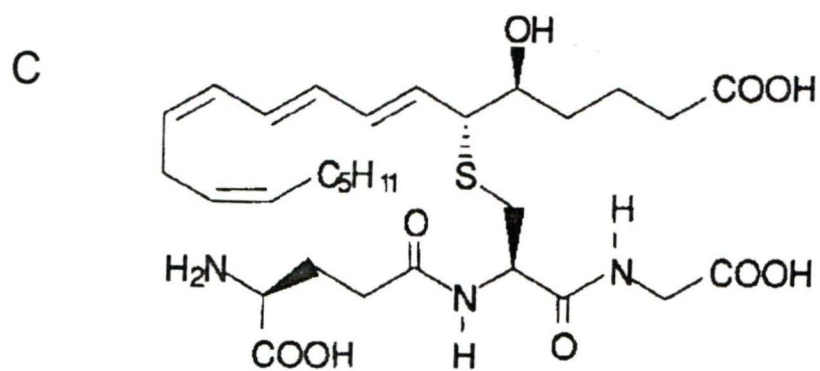
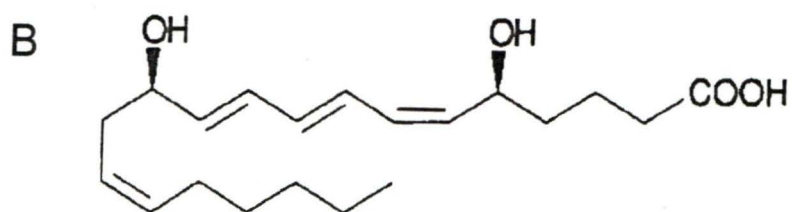
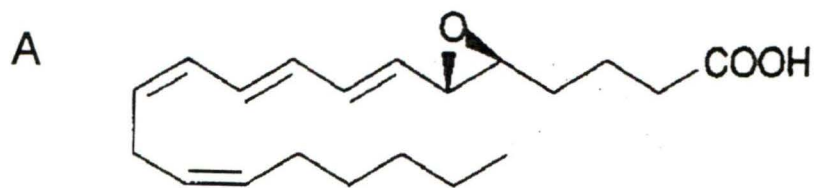
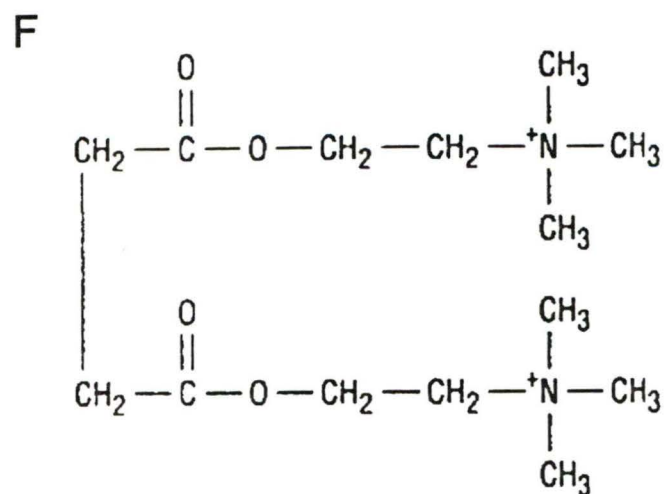
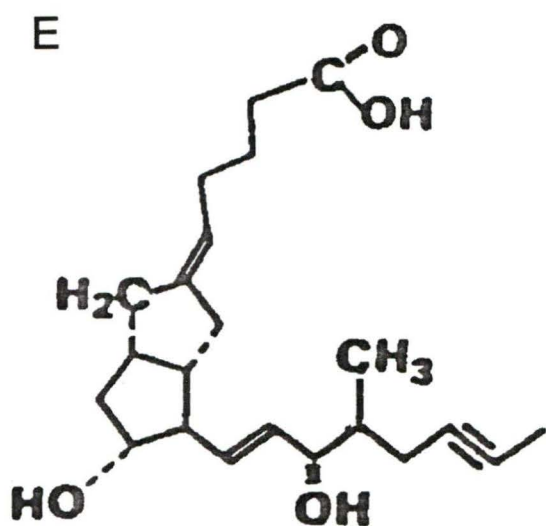
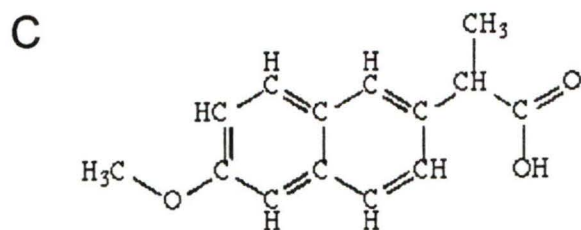
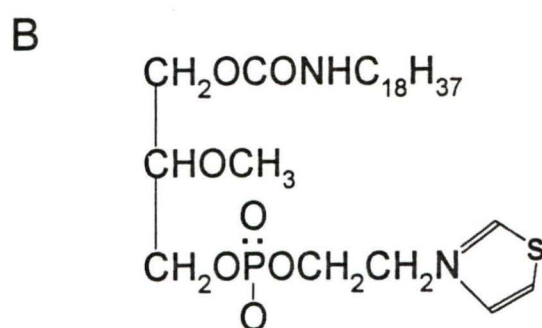
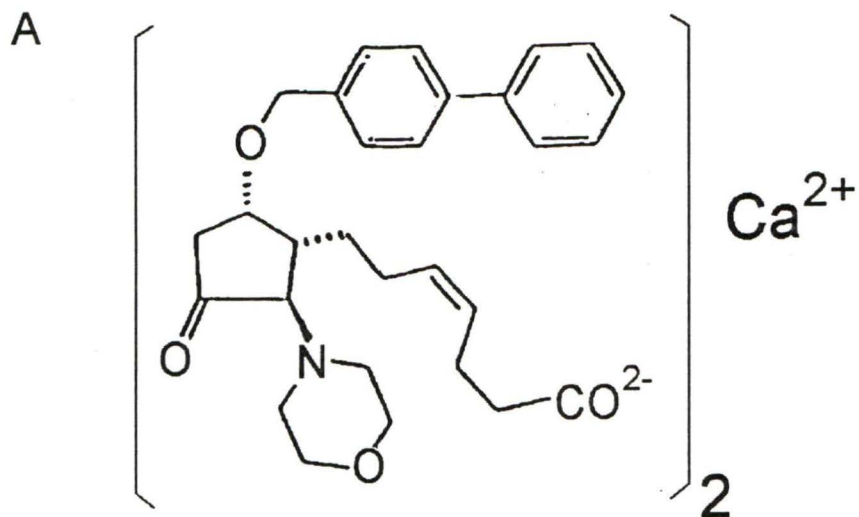


Figure 15 : Structures moléculaires des antagonistes et inhibiteurs ; l'indométacine (A), le naproxen (B), le composé L-654,664 (C) et le composé CV 3988 (D).



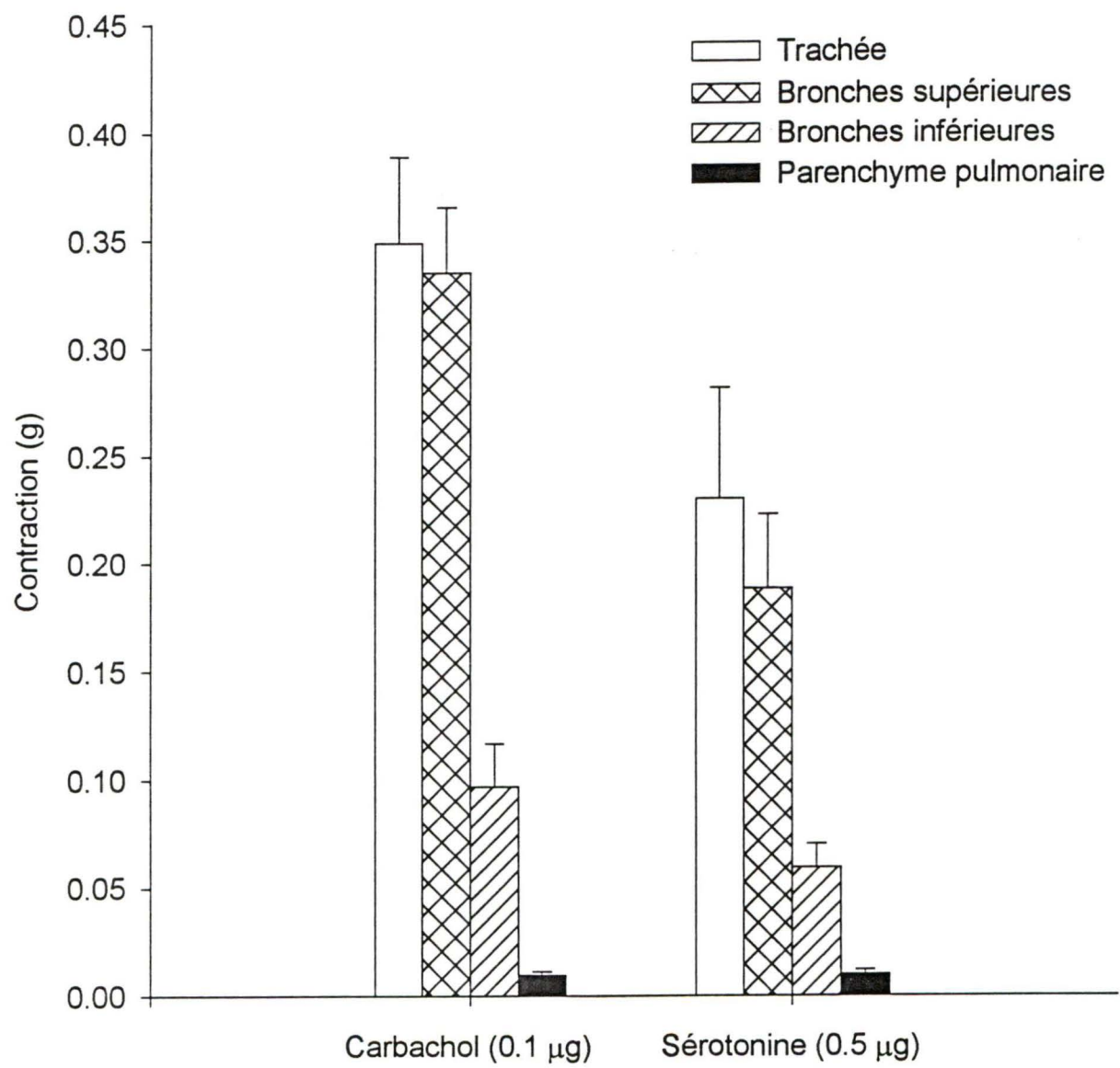
RÉSULTATS

3.1 COMPARAISON DE LA RÉACTIVITÉ DES TISSUS PULMONAIRES DE SOURIS

En premier lieu, nous avons comparé la réactivité des différentes parties de l'arbre trachéo-bronchique (trachée, bronches supérieures, bronches inférieures et parenchyme pulmonaire) à deux agents myotropes sur le système pulmonaire, soient le carbachol (0.1 μ g) et la sérotonine (0.5 μ g). Ces doses utilisées pour chaque composé sont à peu près équivalentes sur une base molaire et sont près du ED₅₀ (observé chez la trachée ou les bronches d'autres espèces) pour ces composés. La trachée, les bronches supérieures, les bronches inférieures et le parenchyme contractent de façon significative suite aux injections de carbachol et de sérotonine (Figure 16). Aux concentrations utilisées, ces deux agonistes produisent une activité myotrope semblable sur la trachée et les bronches supérieures, mais plus faible sur les bronches inférieures et sur le parenchyme pulmonaire. Sous l'action du carbachol les tissus exercent les tensions suivantes : la trachée, 0.35 g ; les bronches supérieures, 0.34 g ; les bronches inférieures, 0.1 g et le parenchyme pulmonaire, 0.012 g. En réponse à la sérotonine, les tissus exercent les tensions suivantes : la trachée, 0.23 g ; les bronches supérieures, 0.19 g ; les bronches inférieures, 0.05 et le parenchyme pulmonaire, 0.011 g.

Sur une base molaire, on constate que le carbachol est un agoniste plus puissant que la sérotonine pour induire des contractions des différentes préparations tissulaires de poumon de

Figure 16 : Comparaison de la réactivité des tissus pulmonaires isolés de souris à deux agonistes contractiles (carbachol et sérotonine). Réponses contractiles de la trachée (colonnes vides), des bronches supérieures (colonnes hachurées en X), des bronches inférieures (colonnes hachurées dans un seul sens) préparés en anneaux et du parenchyme pulmonaire (colonnes pleines) préparé en bandelettes à des injections en bolus de carbachol (0.1 μg) et de sérotonine (0.5 μg). Les doses choisies sont près du EC_{50} chez d'autres espèces (cobaye, rat). Abscisse : agonistes (μg). Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm erreurs-type de 12 à 17 observations.



souris. De plus, il est à noter que les contractions maximales induites par ces agonistes et d'autres (U-44069 et acétylcholine) sont équivalentes pour la trachée et les bronches supérieures et même, dans certains cas, plus prononcées pour les bronches supérieures.

3.2 EFFETS DES NEUROMÉDIATEURS SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS

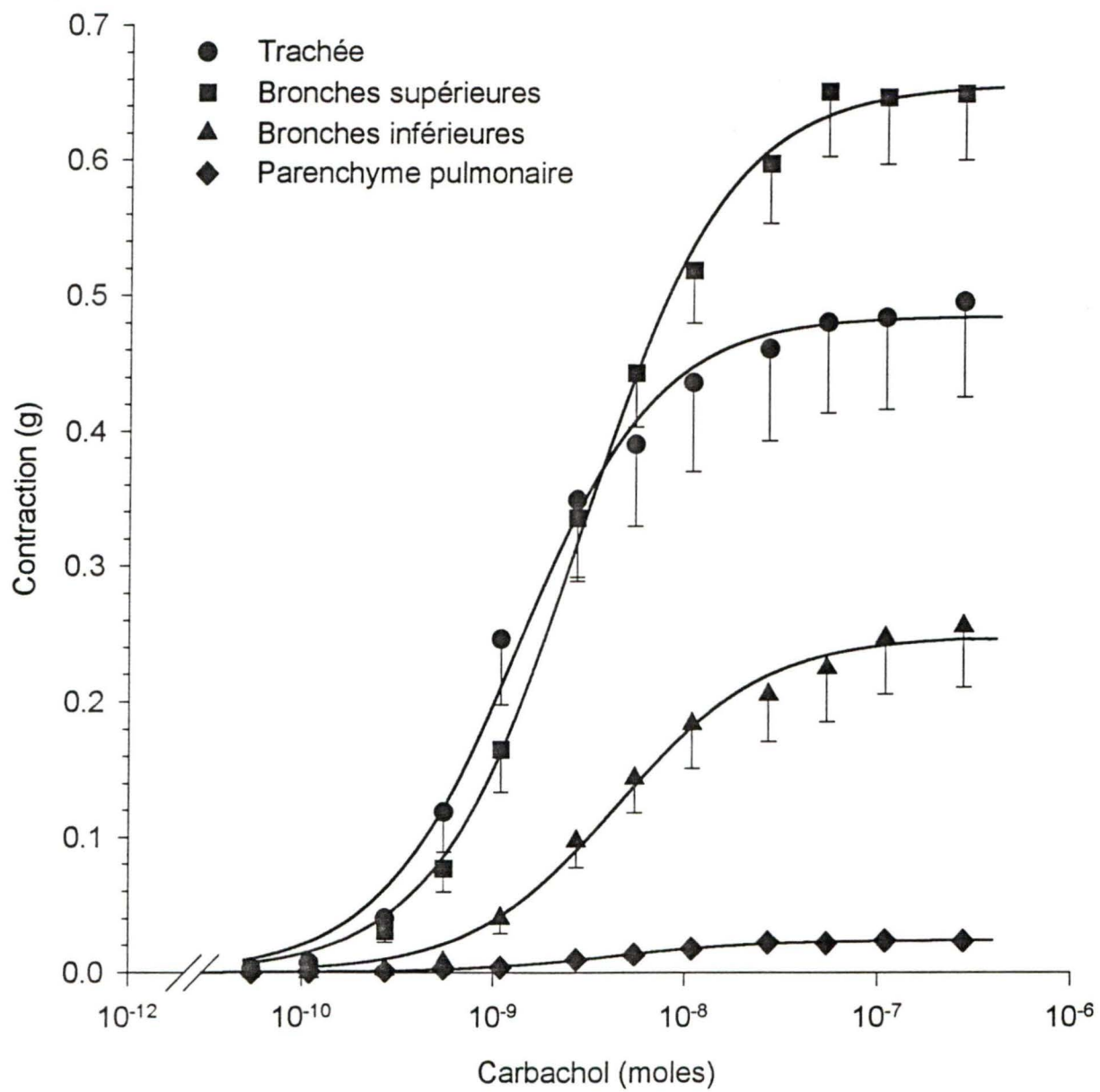
Suite à l'étude comparative de la contractilité de la trachée, des bronches et du parenchyme pulmonaire, des courbes dose-réponse complètes ont été réalisées pour étudier le comportement de chaque tissu en présence des différents neuromédiateurs. À partir de ces courbes dose-réponse les paramètres pharmacologiques tels le ED_{50} (dose à laquelle 50% de l'effet maximal est atteint) et le E_{max} (dose à laquelle l'effet maximal est atteint) peuvent ensuite être calculés.

3.2.1 Effet myotrope du carbachol sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.

Les réponses contractiles de la trachée, des bronches supérieures et inférieures (anneaux) et du parenchyme pulmonaire (bandelettes) ont été étudiées en présence de l'agoniste cholinergique muscarinique carbachol. Dans cette étude, la bronche supérieure est définie comme allant de la trachée jusqu'au lobe pulmonaire principal alors que la bronche inférieure est celle qui est entourée de parenchyme pulmonaire. Aux doses utilisées, le carbachol (2.0×10^{-11} à 4.0×10^{-7} moles) induit des contractions dépendantes de la dose de la trachée des bronches supérieures et inférieures et du parenchyme pulmonaire (Figure 17). Aux doses plus élevées, la

force de contraction de la bronche supérieure est plus importante que celle de la trachée. Par contre, les bronches inférieures et le parenchyme pulmonaire contractent beaucoup moins par rapport aux deux autres tissus. Les contractions maximales (E_{max}) induites par le carbachol sont les suivantes : bronches supérieures, 0.66 g ; trachée, 0.48 ; bronches inférieures, 0.25 g ; parenchyme pulmonaire, 0.02 g. Les ED_{50} pour ce composé sont semblables sur les différents tissus. Le carbachol a un ED_{50} de 1.14×10^{-9} moles sur la trachée, de 2.74×10^{-9} moles sur les bronches supérieures, de 3.98×10^{-9} moles sur les bronches inférieures et de 4.17×10^{-9} moles sur le parenchyme pulmonaire.

Figure 17 : Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris au carbachol. Réponses contractiles de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carrés pleins), des bronches inférieures (triangles pleins) préparées en anneaux et du parenchyme pulmonaire (losanges pleins) préparé en bandelettes à des injections bolus de carbachol (2.0×10^{-11} à 4.0×10^{-7} moles). Abscisse : doses de carbachol en moles. Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 12 à 15 observations.



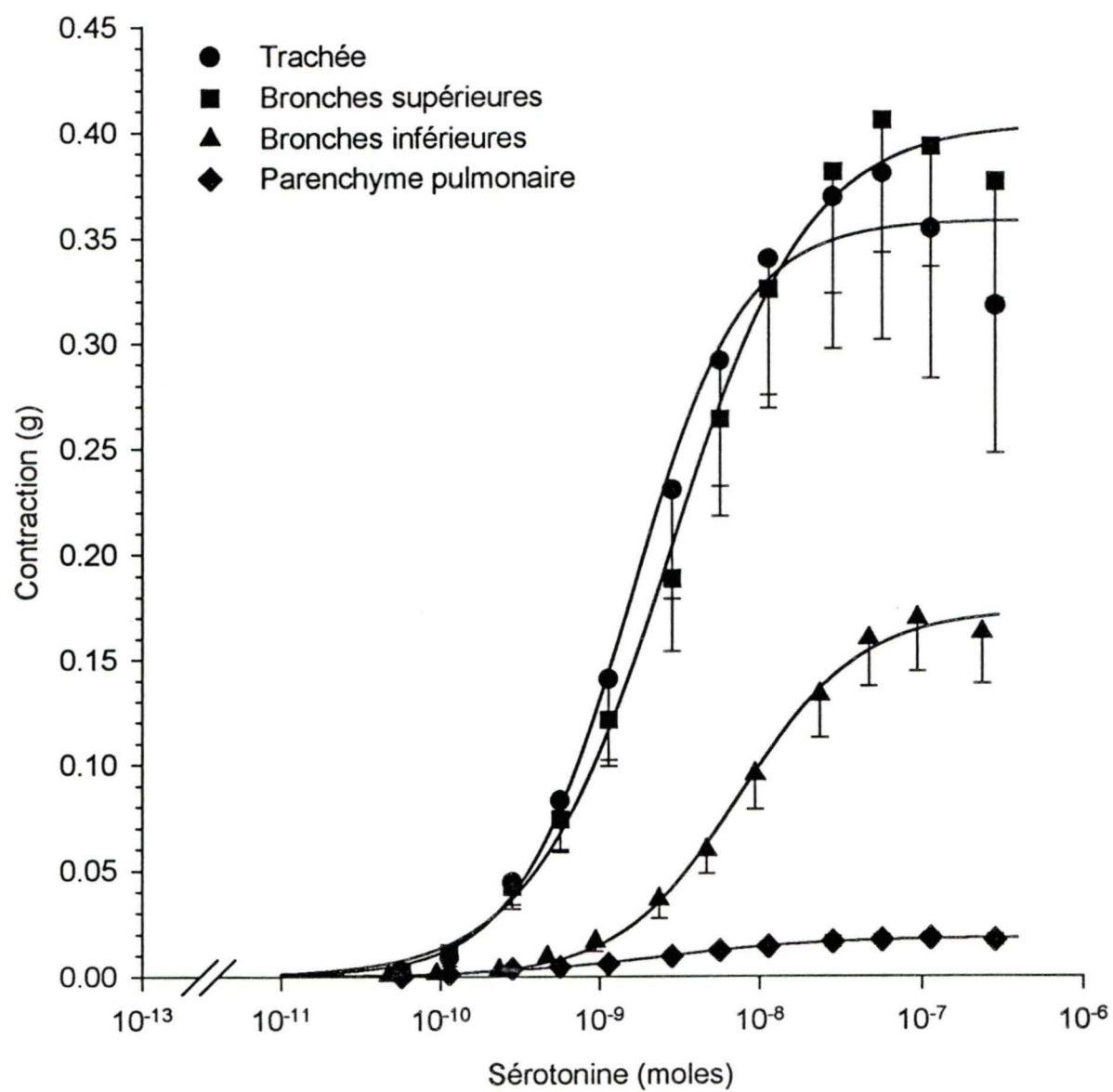
3.2.2 Effet myotrope de la sérotonine sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.

Aux doses utilisées, la sérotonine (7.0×10^{-11} à 4.0×10^{-7} moles) induit des contractions dépendantes de la dose de la trachée, des bronches supérieures et inférieures et du parenchyme pulmonaire (Figure 18). Aux doses plus élevées, la force de contraction de la trachée et des bronches supérieures est équivalente. Cependant, les bronches inférieures et le parenchyme pulmonaire ont une activité myotrope moindre que les deux tissus précédents. Les contractions maximales induites par la sérotonine sont les suivantes : trachée, 0.36 g ; bronches supérieures, 0.4 g ; bronches inférieures, 0.17 g ; parenchyme pulmonaire, 0.02 g. Les ED_{50} de la sérotonine sont semblables sur les différents tissus à l'exception des bronches inférieures où le ED_{50} est légèrement plus élevé (déplacé vers la droite). Les valeurs de ED_{50} pour ces tissus sont, 1.62×10^{-9} moles sur la trachée, 2.88×10^{-9} moles sur les bronches supérieures, 7.91×10^{-9} moles sur les bronches inférieures, 1.98×10^{-9} moles sur les parenchyme pulmonaire.

3.2.3 Effet myotrope de l'acétylcholine sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.

Tout comme le carbachol et la sérotonine, l'acétylcholine (6.0×10^{-10} à 4.8×10^{-6} moles) induit des réponses contractiles dépendantes de la dose de la trachée, des bronches supérieures et inférieures et du parenchyme pulmonaire (Figure 19). À une même dose, les forces de contraction induites par l'acétylcholine diminue en descendant l'arbre trachéo-

Figure 18 : Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à la sérotonine. Réponses contractiles de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carrés pleins), des bronches inférieures (triangles pleins) préparées en anneaux et du parenchyme pulmonaire (losanges pleins) préparé en bandelettes à des injections bolus de sérotonine (7.0×10^{-11} à 4.0×10^{-7} moles). Abscisse : doses de sérotonine en moles. Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 13 à 16 observations.



bronchique, c'est-à-dire de la trachée en passant par les bronches supérieures et inférieures jusqu'au parenchyme pulmonaire. Les contractions maximales induites par l'acétylcholine sont : 1.00 g sur la trachée, 0.85 g sur les bronches supérieures, 0.38 g sur les bronches inférieures, 0.04 g sur le parenchyme pulmonaire. Dans certains cas, les valeurs maximales n'ont pu être obtenues et les valeurs présentées sont donc extrapolées à partir des courbes. Les ED_{50} de l'acétylcholine pour les différents tissus s'échelonnent sur deux logs. Ces valeurs sont : 5.91×10^{-9} moles sur la trachée, 6.31×10^{-8} moles sur les bronches supérieures, 7.25×10^{-8} moles sur les bronches inférieures, 4.17×10^{-7} moles sur le parenchyme pulmonaire.

3.2.4 Comparaison des effets myotropes des neuromédiateurs sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris.

Les trois neuromédiateurs étudiés sont de puissants agonistes contractiles des tissus pulmonaires isolés de souris. Ceux-ci induisent des contractions dépendantes de la dose. En général, ces neuromédiateurs induisent des contractions maximales équivalentes sur la trachée et les bronches supérieures à l'exception du carbachol qui contracte les bronches supérieures de façon plus importante que la trachée. De plus, au fur et à mesure que l'on descend l'arbre trachéo-bronchique, les contractions maximales induites par ces neuromédiateurs diminuent en force. Le carbachol et la sérotonine ont une efficacité semblable sur les tissus étudiés puisqu'ils possèdent des ED_{50} semblables pour chacun des tissus respectivement (Tableau I). Par contre, le carbachol est un agoniste plus puissant que la sérotonine car les contractions induites par le

Figure 19 : Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à l'acétylcholine. Réponses contractiles de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carrés pleins), des bronches inférieures (triangles pleins) préparées en anneaux et du parenchyme pulmonaire (losanges pleins) préparé en bandelettes à des injections bolus d'acétylcholine (6.0×10^{-10} à 4.8×10^{-6} moles). Abscisse : doses d'acétylcholine en moles. Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 11 à 14 observations.

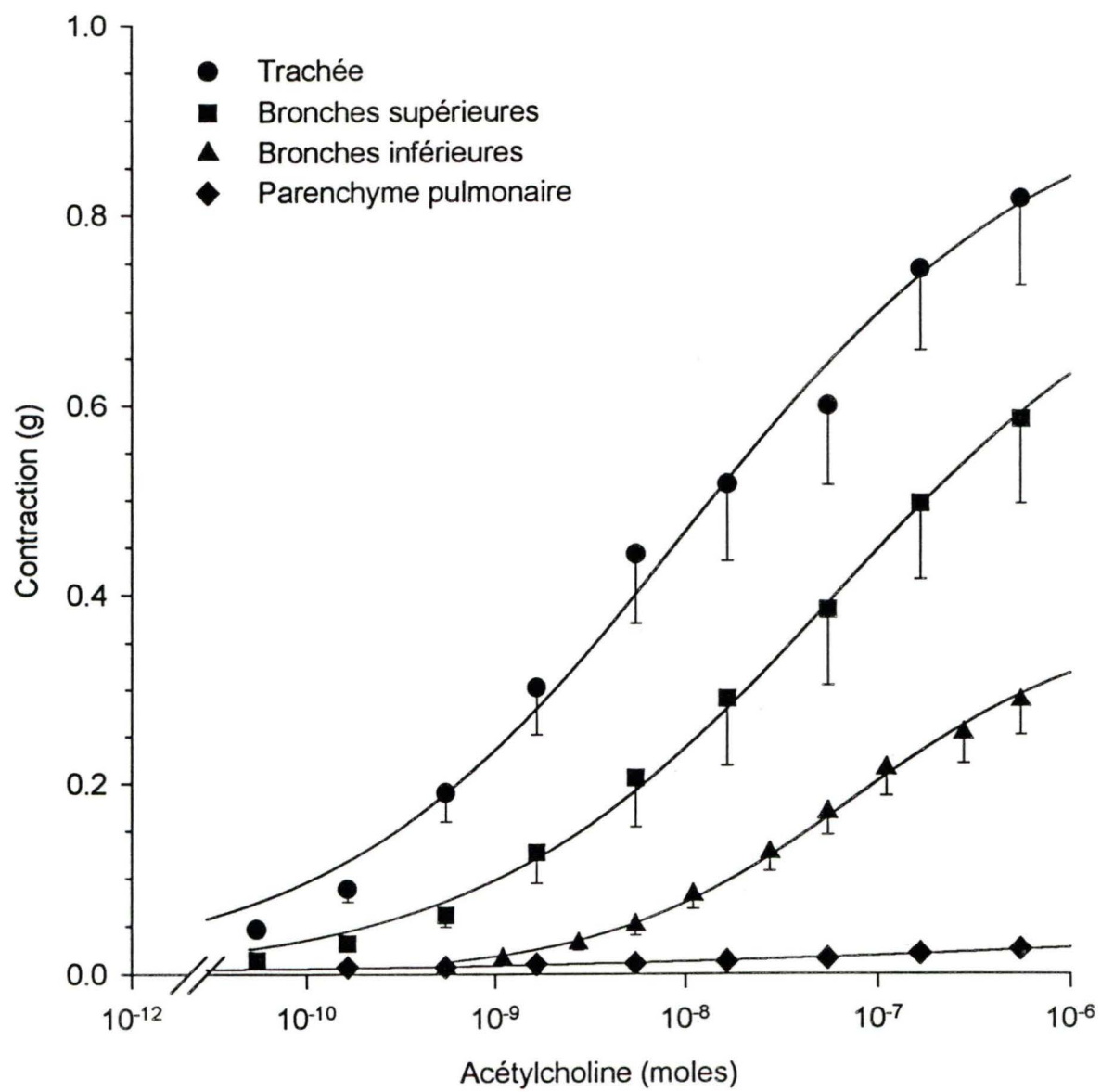


Tableau I. ED₅₀ et E_{max} pour les neuromédiateurs sur les voies respiratoires isolées de souris.

Agoniste	Tissu	Effet	ED ₅₀ moles	Erreur moles	E _{max} g	Erreur g
Serotonin	Trachée	C	1.62 x10 ⁻⁹	2.64 x10 ⁻¹⁰	0.36	0.011
	Bronches supérieures	C	2.88 x10 ⁻⁹	3.44 x10 ⁻¹⁰	0.40	0.010
	Bronches inférieures	C	7.91 x10 ⁻⁹	6.15 x10 ⁻¹⁰	0.17	0.004
	Parenchyme pulmonaire	C	1.98 x10 ⁻⁹	3.79 x10 ⁻¹⁰	0.02	0.0006
Acetylcholine	Trachée	C	5.91 x10 ⁻⁹	2.13 x10 ⁻⁹	1.00	0.052
	Bronches supérieures	C	6.31 x10 ⁻⁸	1.10 x10 ⁻⁸	0.85	0.034
	Bronches inférieures	C	7.25 x10 ⁻⁸	6.38 x10 ⁻⁹	0.38	0.009
	Parenchyme pulmonaire	C	4.17 x10 ⁻⁷	2.32 x10 ⁻⁷	0.04	0.004
Carbachol	Trachée	C	1.14 x10 ⁻⁹	1.20 x10 ⁻¹⁰	0.48	0.009
	Bronches supérieures	C	2.74 x10 ⁻⁹	1.53 x10 ⁻¹⁰	0.66	0.008
	Bronches inférieures	C	3.98 x10 ⁻⁹	4.95 x10 ⁻¹⁰	0.25	0.008
	Parenchyme pulmonaire	C	4.17 x10 ⁻⁹	2.80 x10 ⁻¹⁰	0.02	3.96 x10 ⁻⁴

C, contraction; R, relaxation

carbachol sont plus fortes que celles induites par la sérotonine. L'*efficacité* à induire des contractions fait allusion à la quantité de composé, sur une base molaire, nécessaire pour induire une contraction, tandis que la *puissance* de contraction fait allusion à la force d'une contraction. L'efficacité est donc déterminée en fonction du ED_{50} d'un composé pour un tissu donné et la puissance est déterminée par le E_{max} induit par un composé sur un tissu donné. L'acétylcholine est moins efficace à contracter les tissus étudiés par rapport aux deux autres composés (ses ED_{50} varient sur 2 logs), mais elle induit des contractions maximales beaucoup plus fortes. L'acétylcholine est donc le neuromédiateur étudié le plus puissant.

3.3 EFFETS DES PROSTANOÏDES SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS

3.3.1 Effets myotrope du composé U-44069 (analogue du thromboxane A_2) sur la trachée, les bronches externes et internes et le parenchyme pulmonaire de souris.

Parmi les prostanoïdes étudiés, le composé U-44069, analogue du thromboxane A_2 , est le seul agoniste induisant des réponses contractiles au niveau des tissus pulmonaires isolés. Aux doses utilisées, le composé U-44069 (2.85×10^{-10} à 2.85×10^{-8} moles) induit des contractions dépendantes de la dose de la trachée, des bronches supérieures et inférieures et du parenchyme pulmonaire (Figure 20). Les contractions induites par cet analogue sont plus marquées au niveau des voies respiratoires supérieures où les bronches supérieures répondent de façon plus importante que la trachée tandis que les réponses suscitées au niveau des bronches inférieures sont moyennes. De plus, ce composé est parmi les agonistes contractiles les plus

Figure 20 : Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris au composé U-44069. Réponses contractiles de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carré pleins), des bronches inférieures (triangles pleins) préparées en anneaux et du parenchyme pulmonaire (losanges pleins) préparé en bandelettes à des injections bolus de l'analogue du thromboxane A_2 , le composé U-44069 (2.85×10^{-10} à 2.85×10^{-8} moles). Abscisse : doses d'acétylcholine en moles. Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 12 à 14 observations.

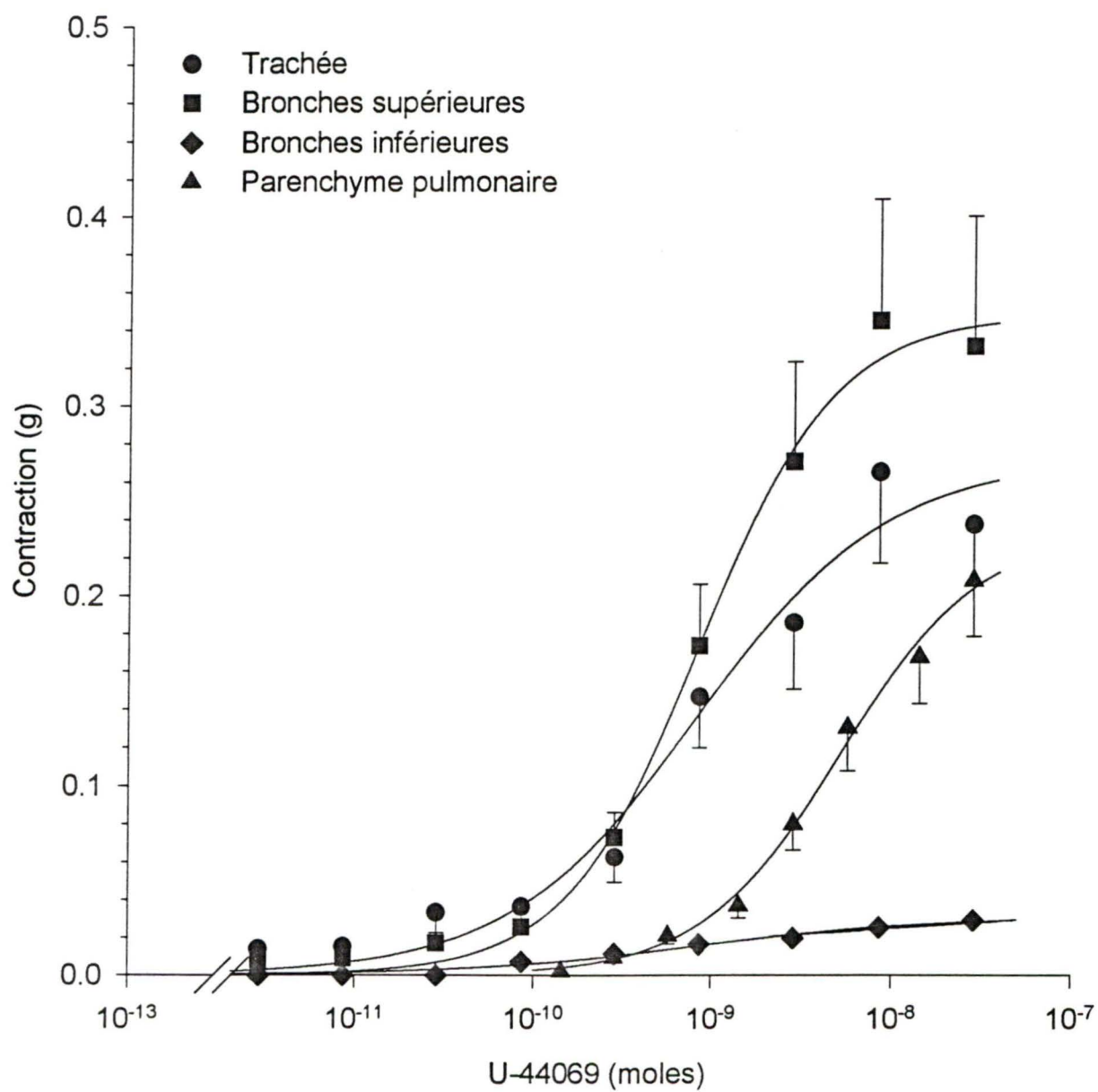
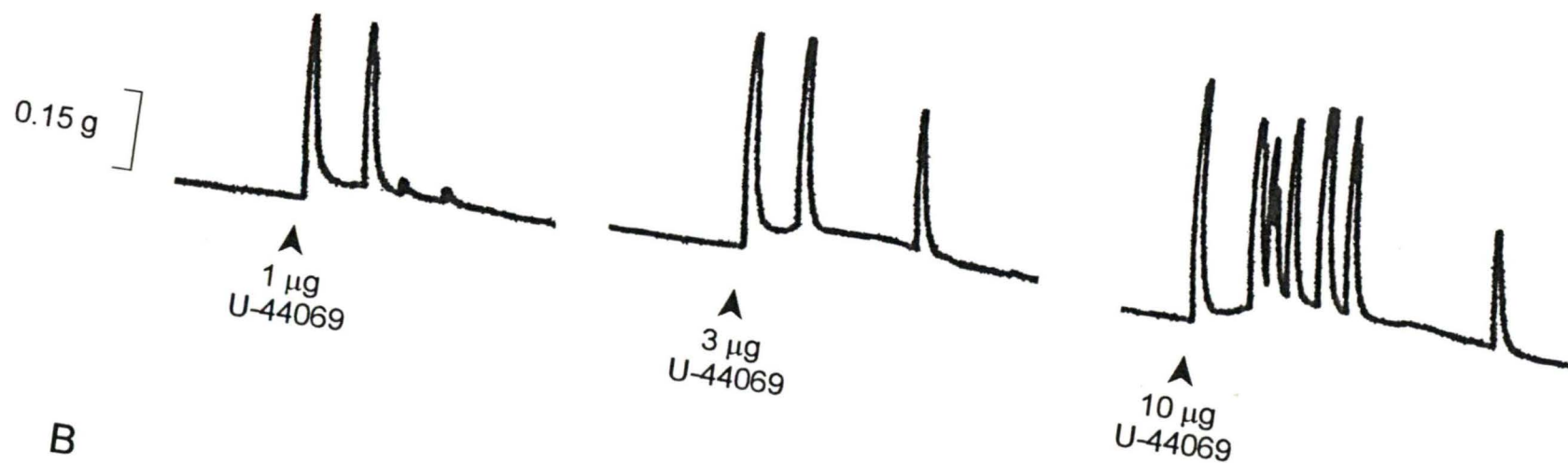
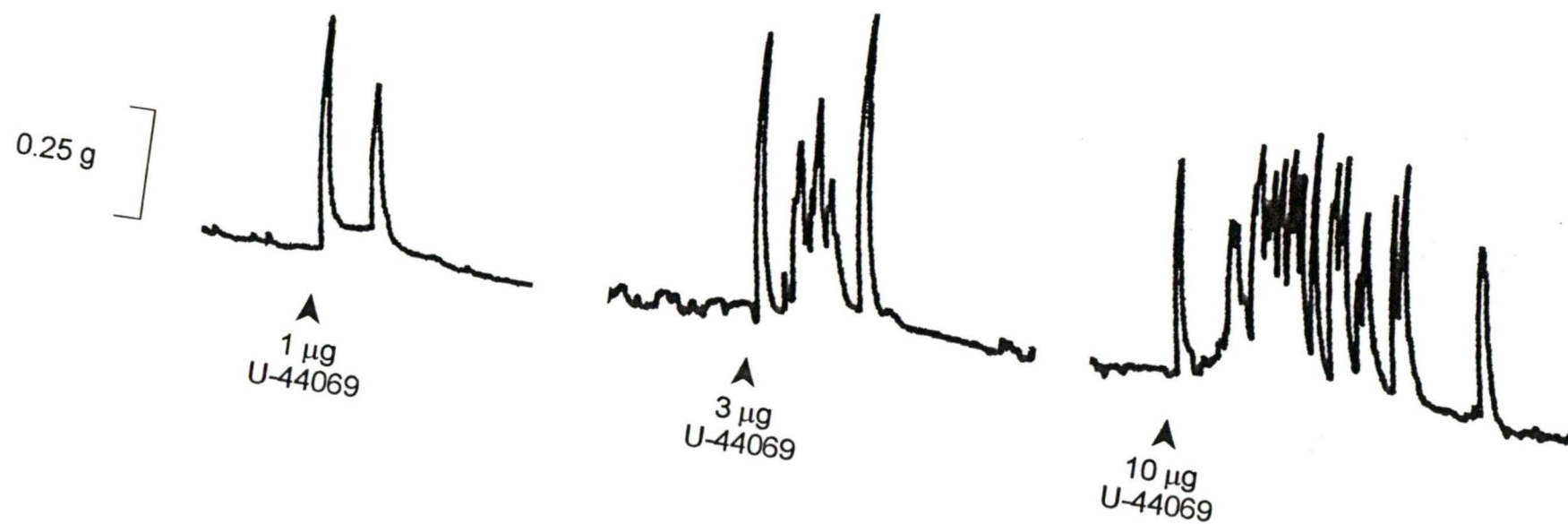


Figure 21 : Tracé-type des contractions observées suite aux injections de l'analogue du thromboxane A_2 U-44069 aux doses de 1 μg à 10 μg . À partir de la dose de 1 μg de U-44069, les contractions observées sont multiples suite à une seule injection. À la dose de 1 μg , les contractions sont souvent dédoublées tandis qu'aux doses subséquentes une contraction initiale est observée et suivent des contractions secondaires multiples.

A



B

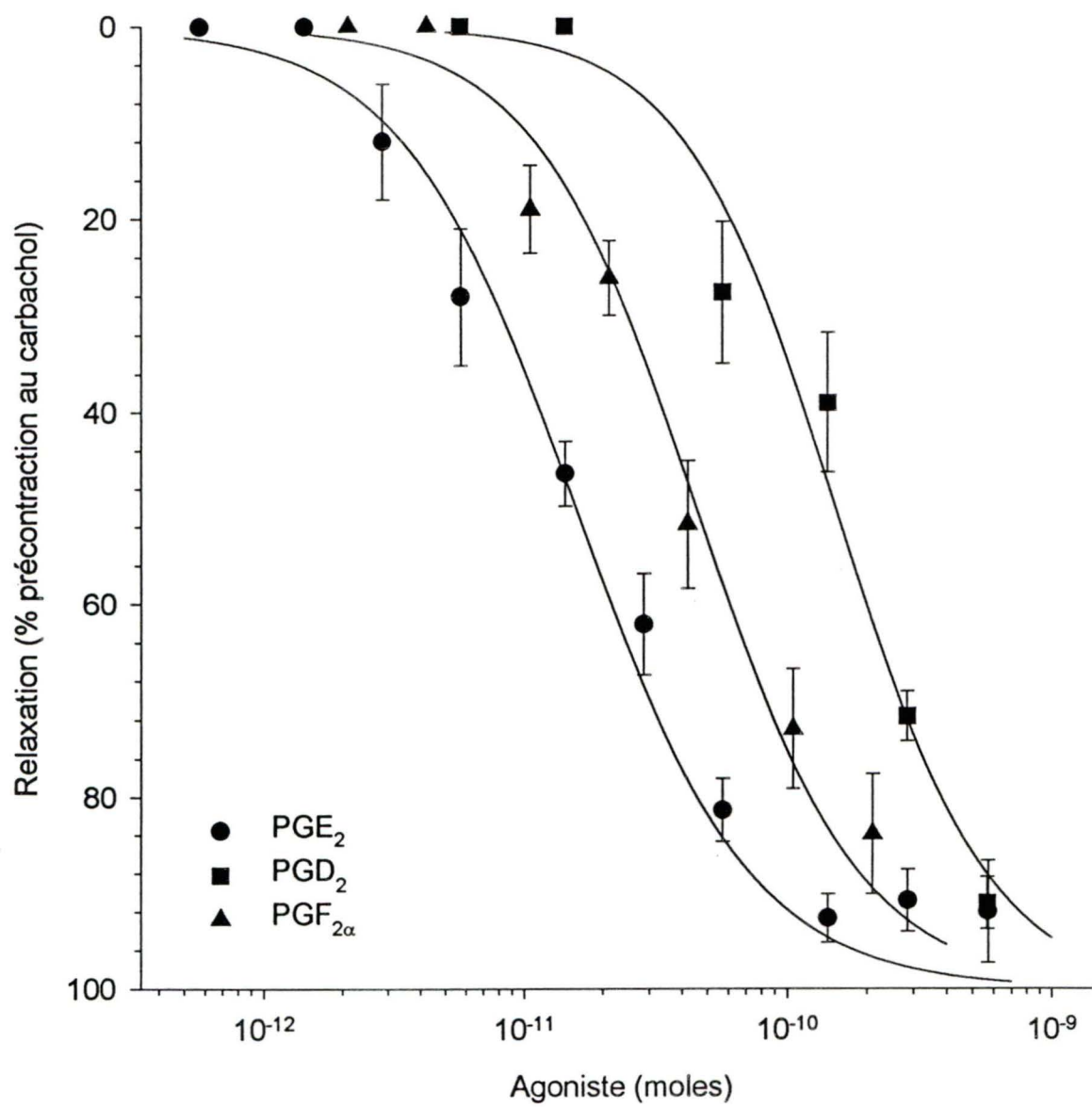


puissants utilisés dans cette étude au niveau du parenchyme pulmonaire. D'autre part, le composé U-44069 est l'agoniste contractile le plus efficace de cette étude à contracter les tissus pulmonaires isolés puisque les ED_{50} de ce composé pour les différents tissus se situent dans les 10^{-10} moles. Ces valeurs sont : 8.81×10^{-10} moles sur la trachée, 9.13×10^{-10} moles sur les bronches supérieures, 5.52×10^{-9} moles sur les bronches inférieures, 8.26×10^{-10} moles sur le parenchyme pulmonaire. Les contractions maximales induites par le U-44069 sont comparables à celles induites par la sérotonine, mais moindres que celles induites par le carbachol et l'acétylcholine. Les E_{max} obtenus avec le U-44069 sont : 0.26 g sur la trachée, 0.35 g sur les bronches supérieures, 0.24 g sur les bronches inférieures, 0.03 g sur le parenchyme pulmonaire. Par ailleurs, à fortes doses (1 à 10 μ g), le composé U-44069 induit des contractions multiples des tissus pulmonaires isolés à une même dose (Figure 21). Ces contractions multiples se caractérisent par l'apparition de pics de contraction secondaires à la contraction initiale. Ces pics de contraction secondaires apparaissent plusieurs secondes suivant la contraction initiale et se répètent en fonction de la dose. En général, à la dose de 1 μ g la contraction est double et à la dose finale de 10 μ g les pics de contraction secondaires sont multiples et très rapprochés.

3.3.2 Effets relaxants de la prostaglandine E_2 sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

La prostaglandine E_2 administrée de façon exogène n'a aucun effet apparent sur le tonus basal des tissus pulmonaires isolés de souris. Dans cette série d'expériences, les tissus pulmonaires isolés devaient donc être précontractés avec un spasmogène administré à l'aide d'une pompe à infusion maintenant une concentration constante afin de pouvoir observer l'effet

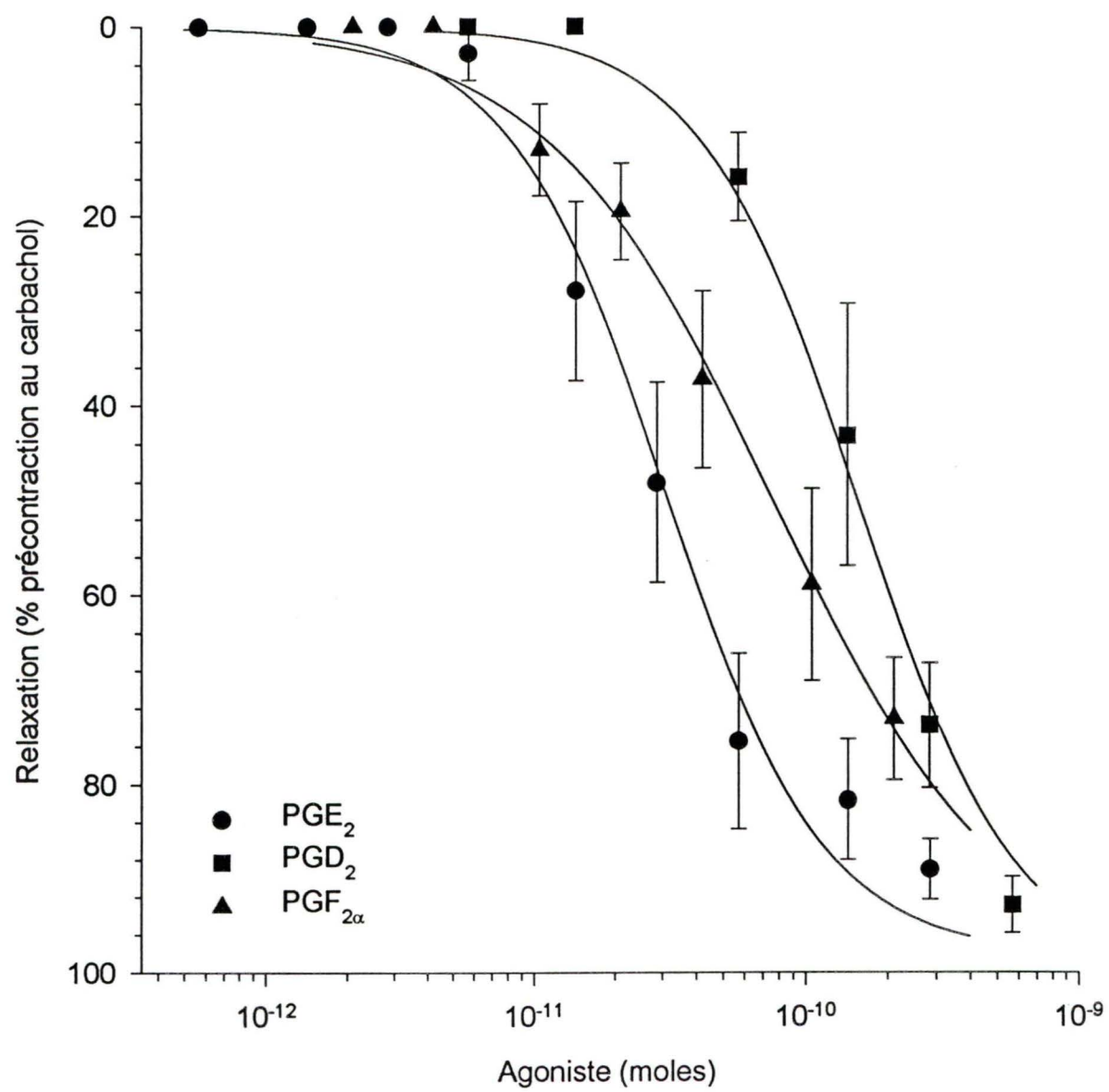
Figure 22 : Relaxations de la trachée de souris précontractée avec le carbachol (15 ng/ml) suite aux injections de prostaglandine E_2 (5.71×10^{-13} à 5.71×10^{-10} moles ; cercles pleins), de prostaglandine D_2 (5.67×10^{-12} à 5.67×10^{-10} moles ; carrés vides) et de prostaglandine $F_{2\alpha}$ (2.1×10^{-12} à 2.1×10^{-10} moles ; triangles pleins). Abscisse : doses de prostaglandines en moles. Ordonnée : pourcentage de relaxations de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 10 à 16 observations.



relaxant de ce prostanoïde. Le spasmogène utilisé pour ces expériences est le carbachol à une concentration de 15 ng/ml et 30 ng/ml pour la trachée et les bronches respectivement. Le parenchyme pulmonaire n'a pu être inclus dans cette étude car ce tissu ne pouvait être précontracté suffisamment pour pouvoir observer les effets relaxants de la prostaglandine E_2 .

Aux doses utilisées, la prostaglandine E_2 (PGE_2 ; 5.71×10^{-13} à 5.71×10^{-10} moles) exerce un effet relaxant sur la trachée et les bronches supérieures et inférieures (Figure 22). Les relaxations maximales induites par la prostaglandine E_2 sur les différents tissus sont très prononcées. Les valeurs obtenues pour ces relaxations sont au-delà de 90% de la précontraction pour chacune des préparations. Ces relaxations débutent aux environs de 3×10^{-12} moles sur la trachée, 6×10^{-12} moles sur les bronches supérieures et 1.5×10^{-11} moles sur les bronches inférieures. De plus, celles-ci sont dépendantes de la dose. Les doses de PGE_2 induisant 50% de la relaxation maximale (ED_{50}) sont, 1.38×10^{-11} moles sur la trachée, 2.90×10^{-11} moles sur les bronches supérieures et 1.23×10^{-10} moles sur les bronches inférieures. On observe que la prostaglandine E_2 est plus efficace au niveau de la trachée et des bronches supérieures qu'au niveau des bronches inférieures car le ED_{50} de la PGE_2 sur ces dernières est déplacé d'environ un log vers la droite. Par contre, la PGE_2 est aussi puissante sur les trois tissus étudiés puisqu'elle induit des relaxations dépassant 90% de la précontraction.

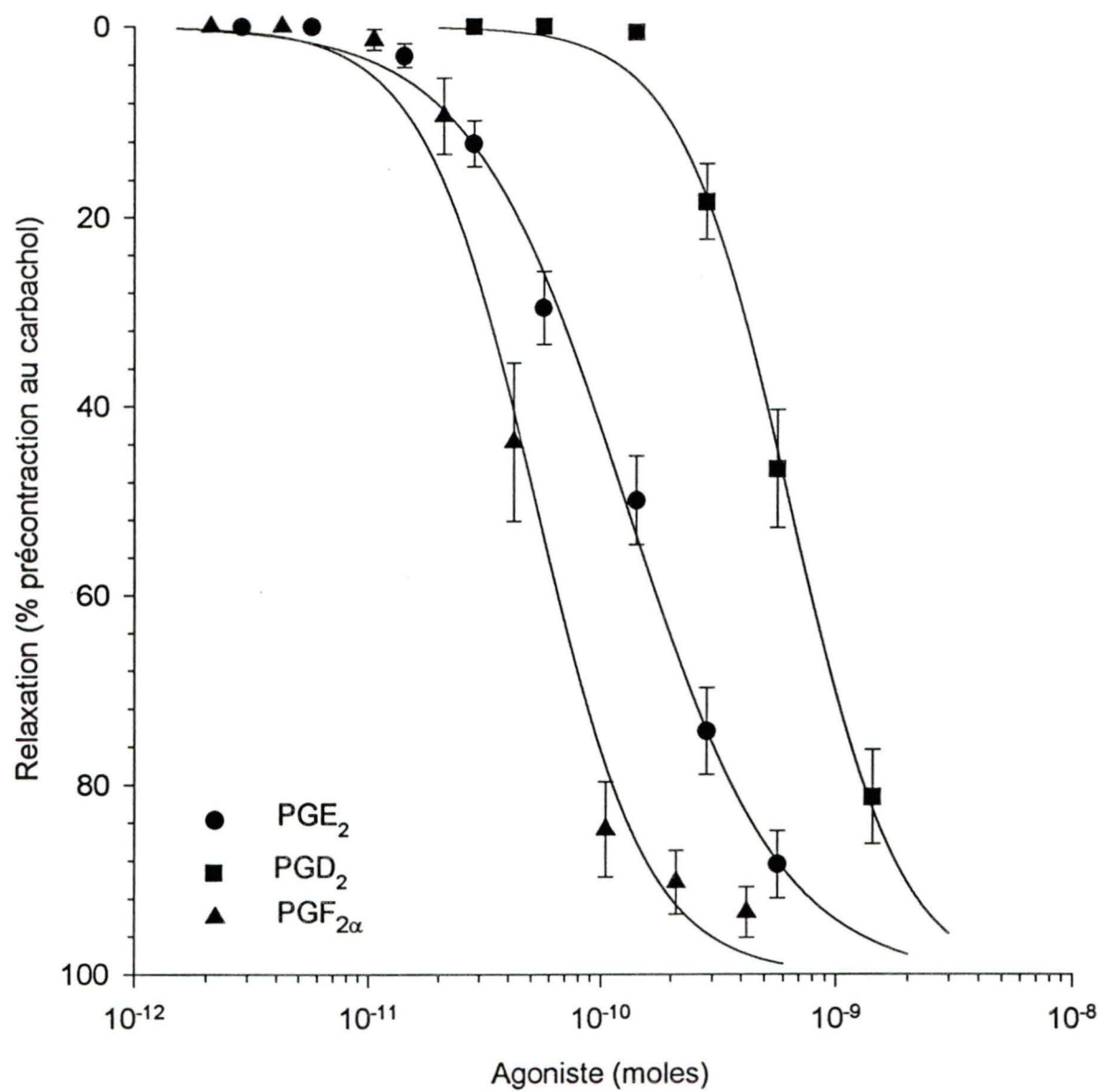
Figure 23 : Relaxations des bronches supérieures de souris précontractées avec le carbachol (30 ng/ml) suite aux injections de prostaglandine E_2 (5.71×10^{-13} à 5.71×10^{-10} moles ; cercles pleins), de prostaglandine D_2 (5.67×10^{-12} à 5.67×10^{-10} moles ; carrés vides) et de prostaglandine $F_{2\alpha}$ (2.1×10^{-12} à 2.1×10^{-10} moles ; triangles pleins). Abscisse : doses de prostaglandines en moles. Ordonnée : pourcentage de relaxations de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 10 à 16 observations.



3.3.3 Effets relaxants de la prostaglandine D₂ sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

Comme pour la prostaglandine E₂, la prostaglandine D₂ n'a aucun effet apparent au niveau du tonus basal des tissus pulmonaires isolés de souris. Les préparations ont donc été précontractées avec un spasmogène (carbachol) pour observer l'effet relaxant. Aux doses utilisées, la prostaglandine D₂ (PGD₂ ; 5.67×10^{-12} à 1.42×10^{-9} moles) induit des relaxations de la trachée et des bronches supérieures et inférieures (Figure 23). Les valeurs maximales de relaxation obtenues avec la prostaglandine D₂ varient de 81% de la précontraction pour les bronches inférieures à 91% et 93% de la précontraction pour la trachée et les bronches supérieures respectivement. Ces relaxations sont dose-dépendantes et débutent aux environs de 3.5×10^{-11} moles sur la trachée, 3.5×10^{-11} moles sur les bronches supérieures et 2.5×10^{-10} moles sur les bronches inférieures. Les doses de prostaglandine D₂ induisant 50% de la relaxation maximale (ED₅₀) sont 1.61×10^{-10} moles sur la trachée, 1.59×10^{-10} moles sur les bronches supérieures et 6.09×10^{-10} moles sur les bronches inférieures. De plus, on observe que les deux paramètres les plus importants, soient le ED₅₀ et le E_{max}, sont semblables sur la trachée et les bronches supérieurs tandis que les résultats obtenus sur les bronches inférieures sont légèrement plus faibles, c'est-à-dire que le ED₅₀ est déplacé vers la droite et le E_{max} est inférieur aux deux autres.

Figure 24 : Relaxations des bronches inférieures de souris précontractées avec le carbachol (30 ng/ml) suite aux injections de prostaglandine E_2 (2.80×10^{-12} à 5.67×10^{-10} moles ; cercles pleins), de prostaglandine D_2 (2.84×10^{-11} à 1.42×10^{-9} moles ; carrés vides) et de prostaglandine $F_{2\alpha}$ (2.1×10^{-12} à 4.2×10^{-10} moles ; triangles pleins). Abscisse : doses de prostaglandines en moles. Ordonnée : pourcentage de relaxations de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 10 à 16 observations.



3.3.4 Effets relaxants de la prostaglandine $F_{2\alpha}$ sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

Tout comme les deux autres prostaglandines étudiées, la prostaglandine $F_{2\alpha}$ n'a aucun effet apparent sur le tonus basal des préparations tissulaires étudiées. Celles-ci ont donc été précontractées avec un spasmogène (carbachol) afin de pouvoir observer les effets relaxants de cette prostaglandine. Aux doses utilisées, la prostaglandine $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$; 2.1×10^{-12} à 4.2×10^{-10} moles) induit des relaxations de la trachée et des bronches supérieures et inférieures (Figure 24). Les relaxations maximales induites par la prostaglandine $F_{2\alpha}$ sont : 84% de la précontraction au niveau de la trachée, 73% de la précontraction sur les bronches supérieures et 93% de la précontraction sur les bronches inférieures. Ces relaxations sont dépendantes de la dose et débutent aux environs de 6×10^{-12} moles sur la trachée, 8×10^{-12} moles sur les bronches supérieures et 1×10^{-11} moles sur les bronches inférieures. Les doses de prostaglandine $F_{2\alpha}$ induisant 50% de la relaxation maximale (ED_{50}) sont 1.38×10^{-11} moles sur la trachée, 6.60×10^{-11} moles sur les bronches supérieures et 4.86×10^{-11} moles sur les bronches inférieures. Pour cette prostaglandine la puissance (E_{max}) à relaxer les différentes préparations varie de façon plus importante que pour les deux prostaglandines précédentes. De plus, au contraire de la PGE_2 et de la PGD_2 , la $PGF_{2\alpha}$ induit des relaxations plus efficaces au niveau des bronches inférieures qu'au niveau des deux autres tissus. La $PGF_{2\alpha}$ a donc un E_{max} supérieur et un ED_{50} déplacé vers la gauche par rapport aux deux autres prostaglandines. Parmi les prostaglandines étudiées, la $PGF_{2\alpha}$ est donc l'agoniste relaxant le plus puissant au niveau des bronches inférieures.

3.3.5 Effets des prostaglandines (PGD_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ et PGI_2) chez différentes souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6, C3H)

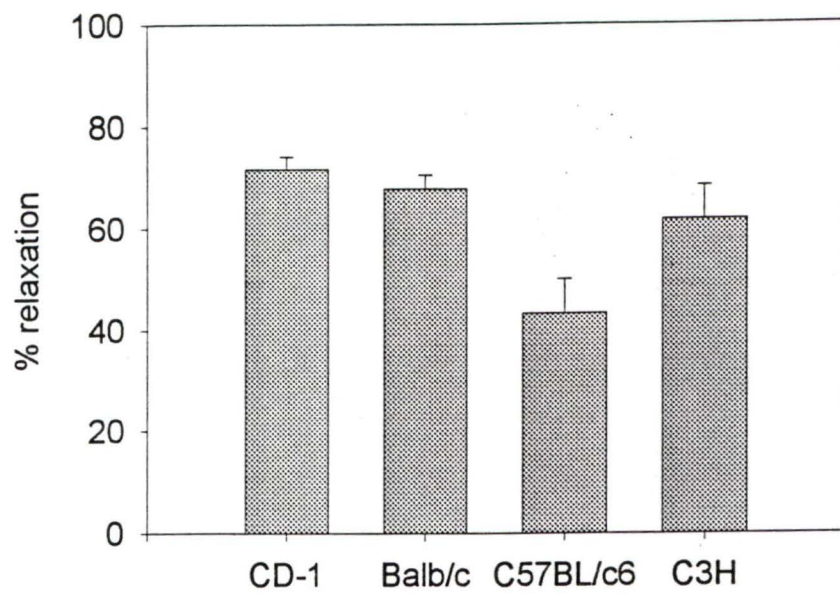
Puisque les prostaglandines D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ sont des agonistes contractiles de plusieurs préparations tissulaires pulmonaires de différentes espèces et des agents relaxants sur les voies respiratoires des souris de la souche CD-1, nous avons vérifié leurs effets sur d'autres souches de souris (BALB/c, C57BL/c6 et C3H) afin de s'assurer que l'effet relaxant n'était pas un effet dépendant de la souche. La PGE_2 a été exclue de cette partie de l'étude car il est connu que cette prostaglandine a un effet relaxant sur les préparations tissulaires pulmonaires d'à-peu-près toutes les espèces. De plus, la prostacycline (PGI_2) a été incluse dans cette partie de l'étude, car chez la souris CD-1 cette prostaglandine n'avait qu'un faible effet relaxant à très forte dose ($> 2.67 \times 10^{-9}$ moles).

Une dose de chaque prostaglandine induisant une relaxation appréciable sur chacune des préparations tissulaires pulmonaires de souris CD-1 a été choisie afin de pouvoir comparer les préparations des différentes souches de souris entre elles. Au niveau de la trachée et des bronches supérieures, les doses de prostaglandines suivantes ont été utilisées : 200 ng de PGD_2 , 20 ng de $\text{PGF}_{2\alpha}$ et 1 μg d'iloprost (PGI_2). Sur les bronches inférieures, 500 ng de PGD_2 , 50 ng de $\text{PGF}_{2\alpha}$, et 1 μg d'iloprost ont été utilisées. De plus, les souches de souris utilisées ont été choisies parmi celles qui sont les plus fréquemment utilisées dans ce type d'étude dont la souche CD-1, la souche BALB/c, la souche C57BL/c6 et la souche C3H.

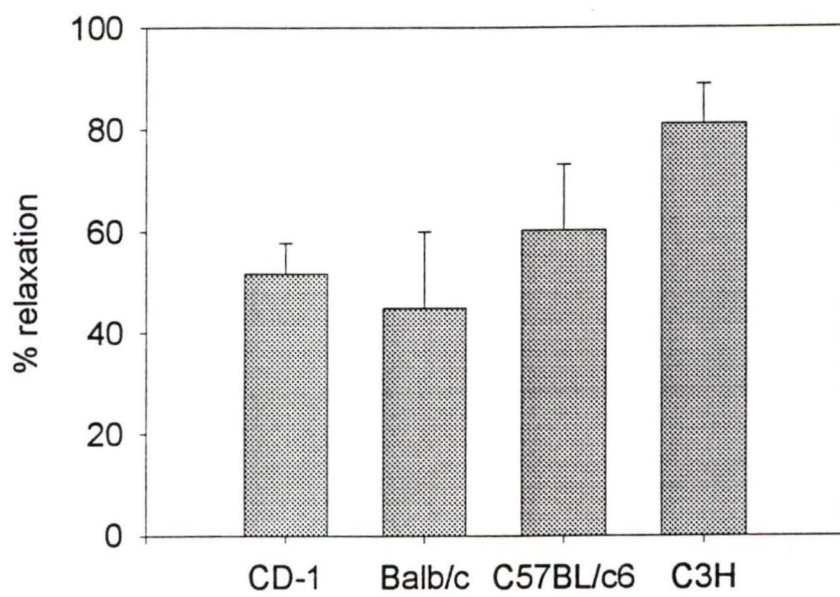
Les prostaglandines D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ induisent des relaxations des préparations tissulaires pulmonaires des quatre souches de souris utilisées. Par contre, ces relaxations sont variables dépendant de la souche de souris (Figures 25, 26 et 27). La PGD_2 montre une efficacité semblable à relaxer les trachées des quatre souches de souris étudiées (Figure 25a). L'effet

Figure 25 : Relaxations de la trachée de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractée au carbachol (15 ng/ml) à la prostaglandine D₂ (200 ng ; A), à la prostaglandine F_{2α} (20 ng ; B) et à l'analogue de la prostaglandine I₂ l'iloprost (1 µg ; C). Abscisse : souches de souris. Ordonnée : pourcentage de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes ± erreurs-type de 9 à 12 observations.

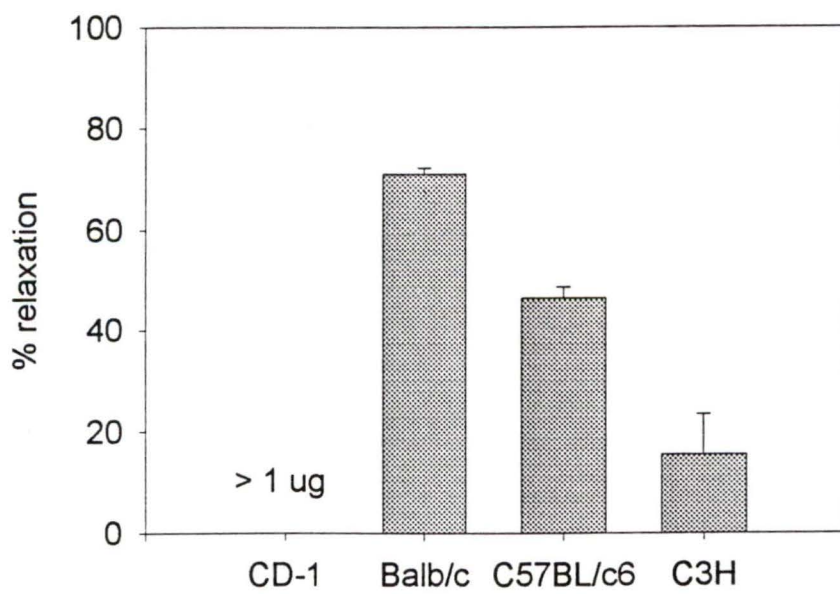
A



B



C



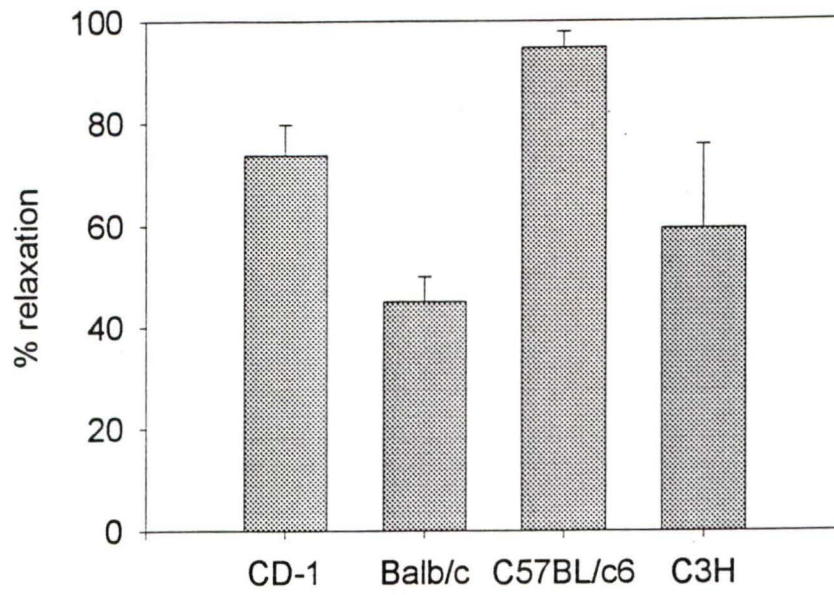
relaxant de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sur les trachées des quatre souches de souris a tendance à décroître selon l'ordre suivant : $\text{C3H} > \text{C57BL/c6} > \text{BALB/c} = \text{CD-1}$ (Figure 25b). D'autre part, à la dose utilisée, l'iloprost n'a aucun effet sur la trachée de souris CD-1, mais relaxe la trachée des trois autres souches étudiées dans l'ordre suivant : $\text{BALB/c} > \text{C57BL/c6} > \text{C3H}$ (Figure 25c). Au niveau des bronches supérieures, la PGD_2 induit des relaxations semblables chez les souches CD-1 et C3H, mais les réponses sont plus élevées pour la souche C57BL/c6 et plus faibles pour la souche BALB/c (Figure 26a). La prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$ induit des relaxations équivalentes au niveau des bronches supérieures des souches CD-1, BALB/c et C57BL/c6, mais les relaxations sont plus prononcées chez la souche C3H (Figure 26b). L'iloprost relaxe les bronches supérieures des souches C57BL/c6 \gg BALB/c, mais à la dose utilisée, n'a aucun effet sur les bronches supérieures des souches CD-1 et C3H (Figure 26c). Au niveau des bronches inférieures des souches CD-1, C57BL/c6 et C3H, la PGD_2 a un effet relaxant équivalent, mais cet effet est légèrement moins fort sur les bronches inférieures des souris BALB/c (Figure 27a). Cette même tendance est observée pour la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sur les bronches inférieures des souches de souris étudiées (Figure 27b). Par contre, l'iloprost n'a aucun effet sur les bronches inférieures des souches CD-1, BALB/c et C3H, mais a un faible effet relaxant sur les bronches inférieures des souris C57BL/c6 (Figure 27c).

3.3.6 Comparaison des effets des prostaglandines E_2 , D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ au niveau des tissus pulmonaires isolés de souris

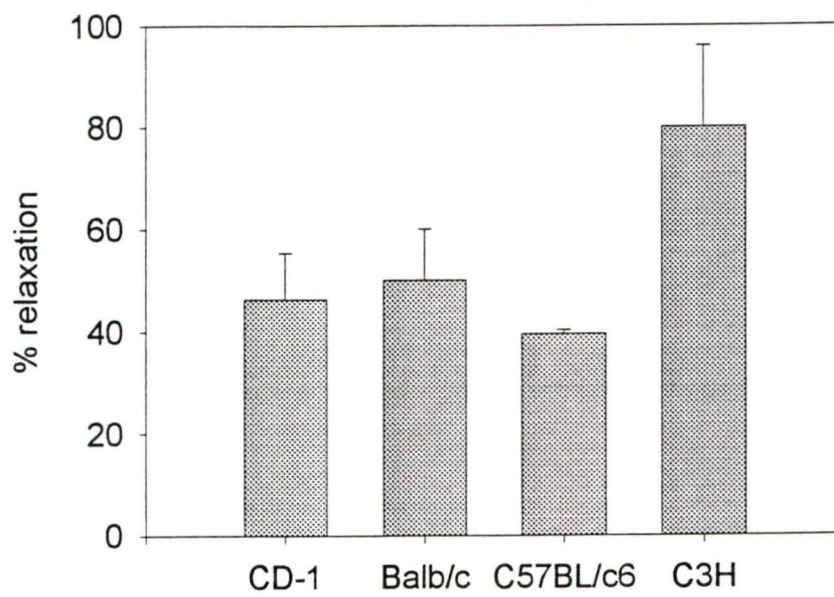
Au niveau de la trachée, les trois prostaglandines étudiées ont un effet relaxant puissant. La PGE_2 est la prostaglandine la plus efficace sur la trachée, tant au niveau de la dose

Figure 26 : Relaxations des bronches supérieures de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractées au carbachol (30 ng/ml) à la prostaglandine D₂ (200 ng ; A), à la prostaglandine F_{2α} (20 ng ; B) et à l'analogue de la prostaglandine I₂ l'iloprost (1 µg ; C). Abscisse : souches de souris. Ordonnée : pourcentage de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes ± erreurs-type de 9 à 12 observations.

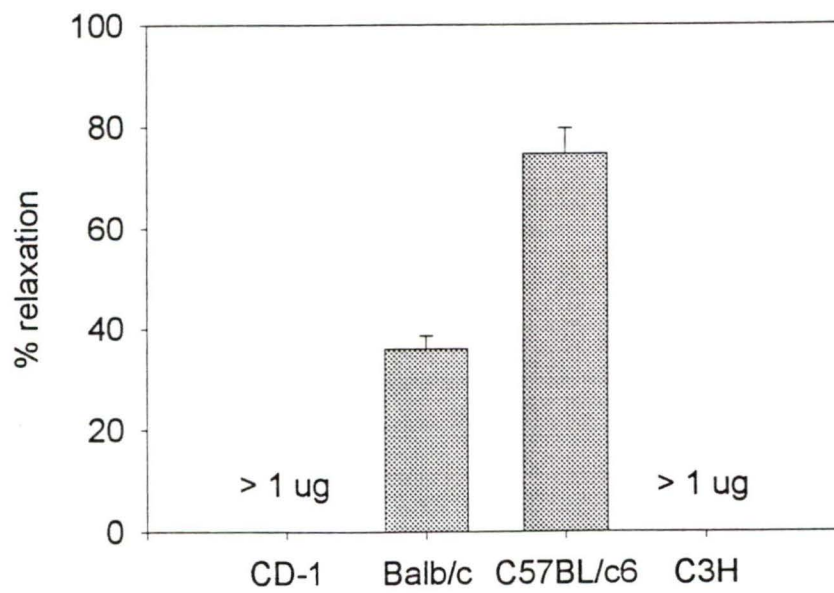
A



B



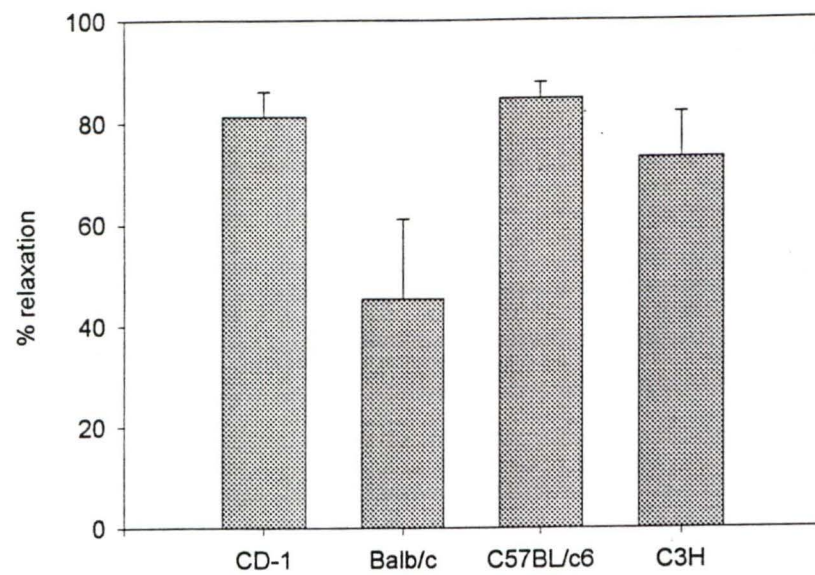
C



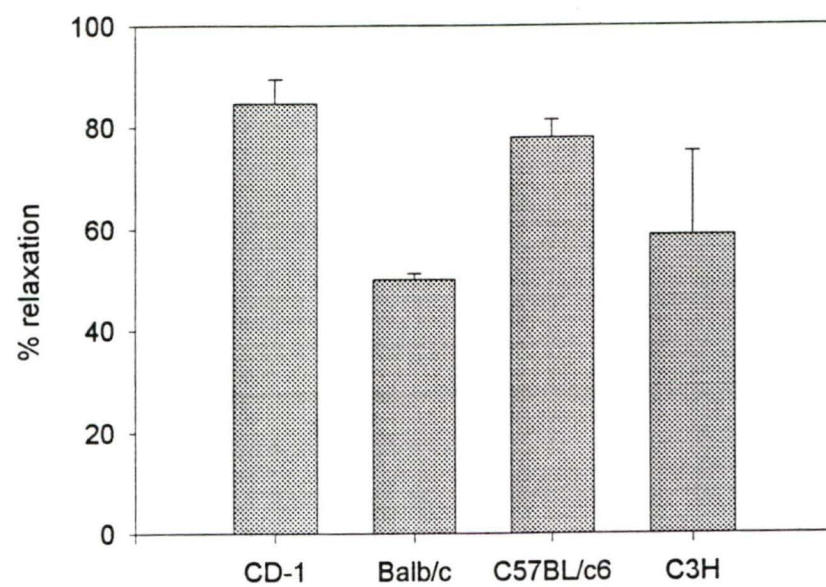
requis pour induire 50% de la réponse maximale qu'au niveau de la réponse maximale elle-même. La $\text{PGF}_{2\alpha}$ a une efficacité semblable à celle de la PGE_2 sur la trachée, mais cette prostaglandine induit une réponse maximale moins prononcée que la PGE_2 . Au contraire de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, la PGD_2 a une efficacité beaucoup moins importante que la PGE_2 puisque le ED_{50} est déplacé d'un log vers la droite par rapport à celui de la PGE_2 , mais la relaxation maximale induite par la PGD_2 est semblable à celle de la PGE_2 . Ainsi, la PGD_2 et la PGE_2 sont aussi puissantes l'une que l'autre à relaxer la trachée de souris (Tableau II). Au niveau des bronches supérieures, les trois prostaglandines induisent des relaxations puissantes et comparables à celles induites sur la trachée. De plus, les relaxations induites sur les bronches supérieures ont les mêmes caractéristiques que celles observées sur la trachée, c'est-à-dire que l'ordre d'efficacité de relaxation est $\text{PGE}_2 \approx \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGD}_2$ et l'ordre de puissance est $\text{PGE}_2 = \text{PGD}_2 > \text{PGF}_{2\alpha}$ (Tableau II). Les effets des prostaglandines sur les bronches inférieures diffèrent des effets obtenus sur les deux tissus précédents surtout au niveau de l'ordre d'efficacité à induire les relaxations. À l'opposé des deux tissus précédents, c'est la $\text{PGF}_{2\alpha}$ plutôt que la PGE_2 qui est la plus efficace à relaxer les bronches inférieures. L'ordre d'efficacité des prostaglandines sur les bronches inférieures est donc $\text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGE}_2 > \text{PGD}_2$. De plus, sur ce tissu, c'est la $\text{PGF}_{2\alpha}$ qui induit les relaxations maximales les plus importantes suivie de la PGE_2 et de la PGD_2 (Tableau II). Par ailleurs, la PGE_2 semble beaucoup moins efficace à relaxer les bronches inférieures que la trachée et les bronches supérieures puisque le ED_{50} de la PGE_2 sur les bronches inférieures est déplacé d'environ un log par rapport aux ED_{50} obtenus sur les deux autres tissus.

Figure 27 : Relaxations des bronches inférieures de quatre souches de souris (CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H) précontractées au carbachol (30 ng/ml) à la prostaglandine D_2 (500 ng ; A), à la prostaglandine $F_{2\alpha}$ (50 ng ; B) et à l'analogue de la prostaglandine I_2 l'iloprost (1 μ g ; C). Abscisse : souches de souris. Ordonnée : pourcentage de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 9 à 12 observations.

A



B



C

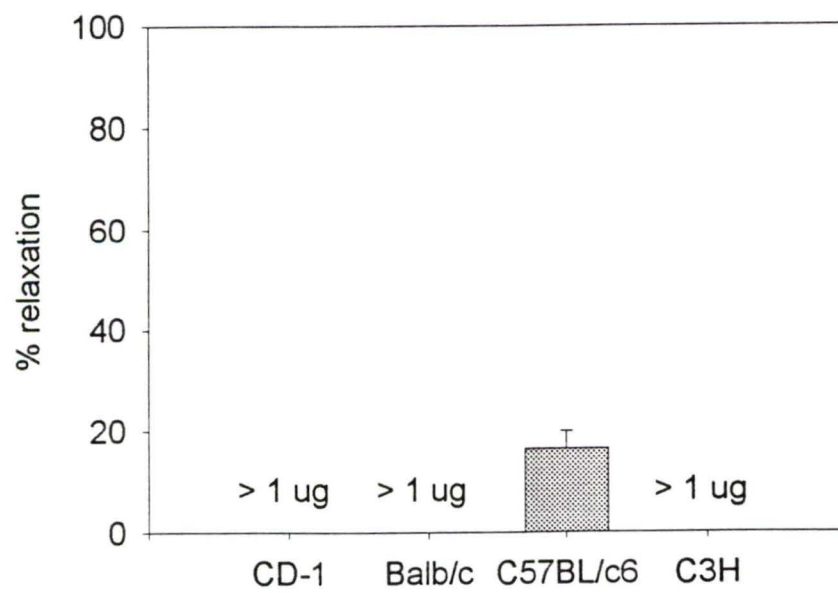


Tableau II. ED₅₀ et E_{max} pour les prostanoïdes sur les voies respiratoires isolées de souris.

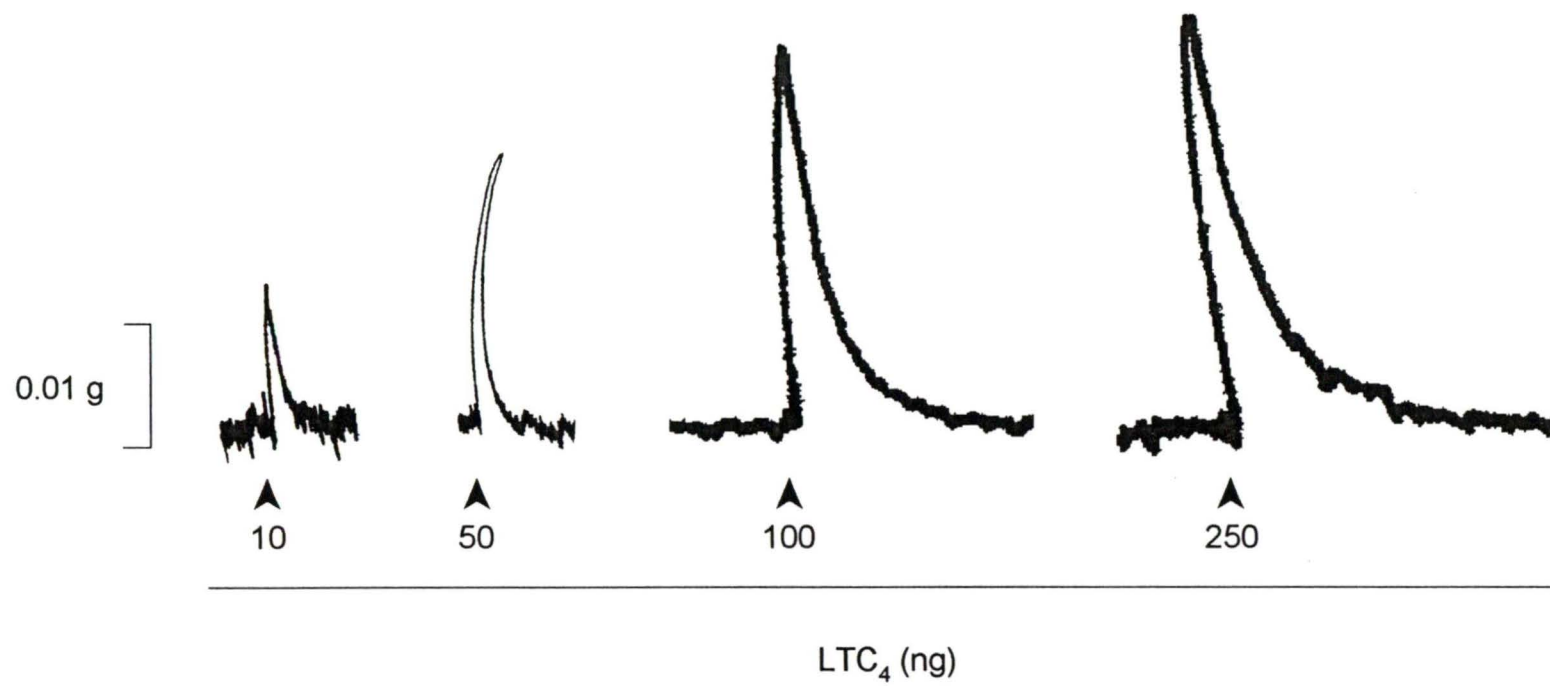
Agoniste	Tissu	Effet	ED ₅₀ moles	Erreur moles	E _{max} g ou %	Erreur g ou %
TxA ₂	Trachée	C	8.81 x10 ⁻¹⁰	2.61 x10 ⁻¹⁰	0.26	0.020
	Bronches supérieures	C	9.13 x10 ⁻¹⁰	9.95 x10 ⁻¹¹	0.35	0.011
	Bronches inférieures	C	5.23 x10 ⁻⁹	1.19 x10 ⁻⁹	0.24	0.026
	Parenchyme pulmonaire	C	8.26 x10 ⁻¹⁰	4.63 x10 ⁻¹⁰	0.03	0.005
PGD ₂	Trachée	R	1.61 x10 ⁻¹⁰	2.25 x10 ⁻¹¹	91.1 %	1.23
	Bronches supérieures	R	1.59 x10 ⁻¹⁰	6.99 x10 ⁻¹²	92.8 %	1.67
	Bronches inférieures	R	6.09 x10 ⁻¹⁰	2.97 x10 ⁻¹¹	81.3 %	2.01
PGF _{2α}	Trachée	R	3.86 x10 ⁻¹¹	5.04 x10 ⁻¹²	83.9 %	1.30
	Bronches supérieures	R	6.60 x10 ⁻¹¹	5.22 x10 ⁻¹²	73.2 %	1.12
	Bronches inférieures	R	4.86 x10 ⁻¹¹	3.48 x10 ⁻¹²	93.4 %	1.79
PGE ₂	Trachée	R	1.38 x10 ⁻¹¹	2.49 x10 ⁻¹²	92.1 %	1.33
	Bronches supérieures	R	2.90 x10 ⁻¹¹	2.96 x10 ⁻¹²	89.0 %	1.02
	Bronches inférieures	R	1.23 x10 ⁻¹⁰	8.09 x10 ⁻¹²	88.4 %	1.54

C, contraction; R, relaxation

3.4 EFFETS DES LEUCOTRIÈNES SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS

Les effets des leucotriènes (LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 et LTE_4) sur la trachée, les bronches supérieures, les bronches inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris ont été évalués. La dose maximale utilisée était de 5×10^{-10} moles. Parmi les leucotriènes, seulement le leucotriène C_4 induit de faibles contractions de la trachée et des bronches supérieures (Figure 28). Les contractions induites par le LTC_4 sont très tachyphylactiques. Chaque dose de LTC_4 devait être donnée à intervalles de 90 minutes et entre chacune de ces doses des injections de carbachol (2 μg) devaient être données pour maintenir la contractilité de la préparation. De plus, l'effet de chacun des leucotriènes étudiés a été vérifié chez trois autres souches de souris (BALB/c, C57BL/c6 et C3H) afin d'établir que l'effet observé chez la souris CD-1 n'était pas dépendant de la souche. Dans la plupart des cas les leucotriènes n'avaient pas d'effet sur les tissus pulmonaires isolés des différentes souches de souris, mais dans quelques cas de très faibles contractions au LTC_4 ont été observées à la dose maximale de 5×10^{-10} moles sur la trachée et les bronches supérieures.

Figure 28 : Tracé-type des réponses contractiles de la trachée et des bronches supérieures à des injections bolus de leucotriène C_4 (2.0×10^{-15} à 5×10^{-10} moles). Les contractions sont espacées de 90 minutes avec quatre à cinq injections bolus de $2 \mu\text{g}$ de carbachol entre-elles.



3.5 EFFETS DES PEPTIDES BIOACTIFS SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS

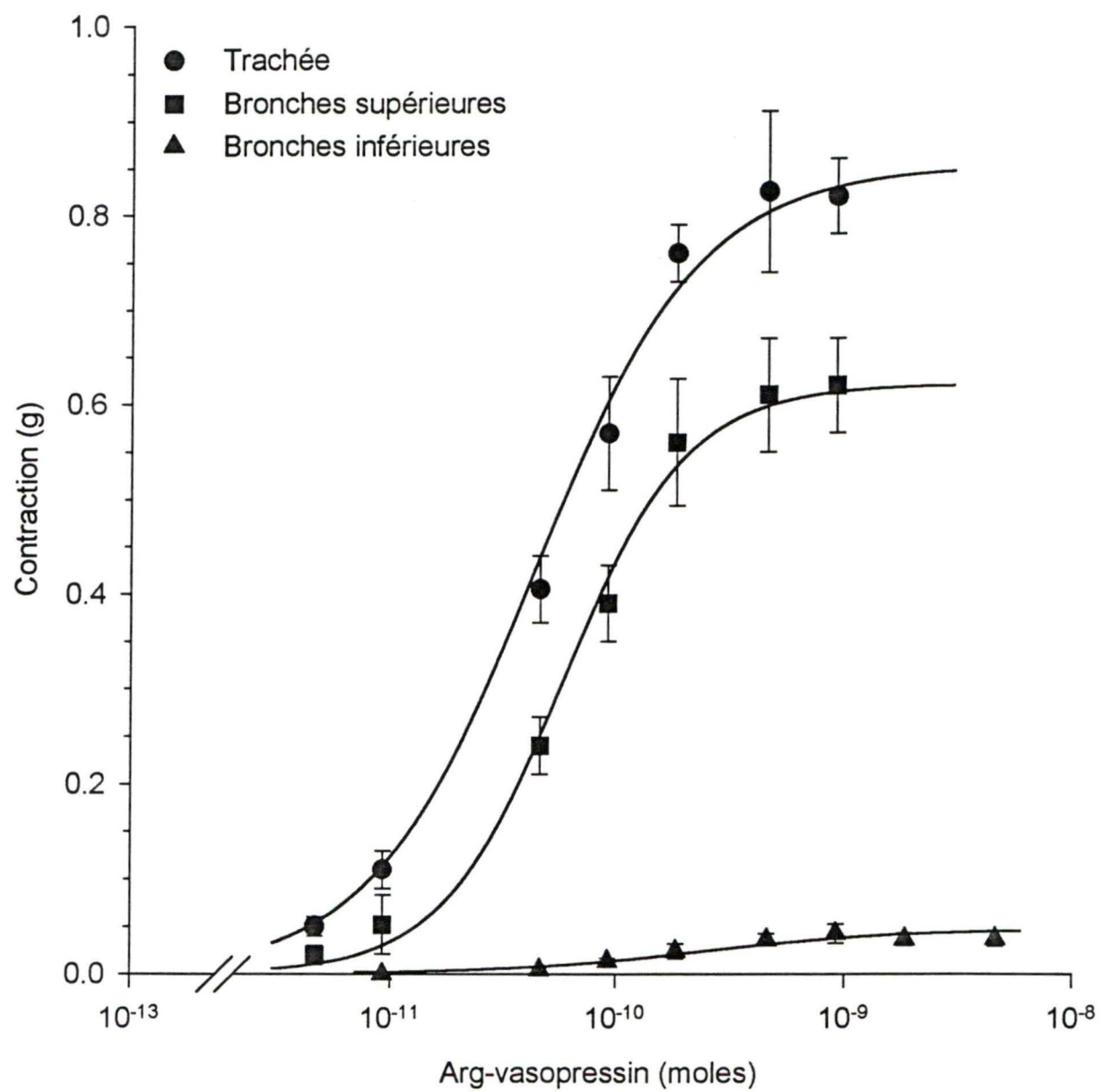
3.5.1 Effets myotropes de l'arginine-vasopressine (AVP) sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

Aux doses utilisées, l'arg-vasopressine (4.61×10^{-12} à 4.61×10^{-9} moles) induit des contractions dépendantes de la dose de la trachée, des bronches supérieures et des bronches inférieures (Figure 29). Les contractions induites par la vasopressine sont très puissantes sur la trachée et les bronches supérieures et débutent aux environs de 9.0×10^{-12} moles. Par contre, les bronches inférieures répondent de façon beaucoup moins importante que les deux autres tissus à ce peptide. Au niveau des bronches inférieures les contractions débutent aux environs de 4.5×10^{-11} moles. Les contractions maximales (E_{\max}) induites par la vasopressine au niveau des différents tissus sont, 0.85 g sur la trachée, 0.72 g sur les bronches supérieures et 0.04 g sur les bronches inférieures. Les doses nécessaires à l'induction de 50% de la contraction maximale (ED_{50}) sont semblables sur la trachée et les bronches supérieures, mais déplacés vers la droite sur les bronches inférieures. Ces valeurs sont 5.41×10^{-11} moles sur la trachée, 5.82×10^{-11} moles sur les bronches supérieures et 1.34×10^{-10} moles sur les bronches inférieures (Tableau III). On observe que les contractions induites par la vasopressine sur la trachée et les bronches supérieures sont parmi les plus puissantes induites par les composés contractiles étudiés.

3.5.2 Effet du polypeptide vasoactif intestinal (VIP) sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

Au contraire de la vasopressine, le polypeptide vasoactif intestinal est un peptide bioactif relaxant au niveau des tissus pulmonaires isolés de souris. Ce peptide n'a aucun effet sur

Figure 29 : Contractions des tissus pulmonaires isolés de souris à la vasopressine. Réponses contractiles de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carrés pleins), des bronches inférieures (triangles pleins) à des injections bolus d'arginine-vasopressine (4.61×10^{-12} à 4.61×10^{-9} moles). Abscisse : doses de vasopressine en moles. Ordonnée : contractions en grammes. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 14 à 16 observations.



le tonus basal des tissus, qui doivent être précontractés avec un spasmogène (carbachol) afin d'observer les relaxations. Aux doses utilisées, le VIP (1.5×10^{-11} à 3.0×10^{-9} moles) relaxe la trachée, les bronches supérieures et les bronches inférieures de souris (Figure 30). Le parenchyme pulmonaire est exclu de cette partie de l'étude puisque ce tissu ne peut être précontracté suffisamment pour observer les relaxations. Les relaxations au VIP débutent aux environs de 2.0×10^{-11} moles sur les trois tissus étudiés. Les relaxations maximales obtenues varient selon le tissu. Au niveau de la trachée, le E_{\max} est de 82% de la précontraction, pour les bronches supérieures le E_{\max} est de 92% de la précontraction et pour les bronches inférieures le E_{\max} est de 80% de la précontraction (Tableau III). Le VIP relaxe les tissus pulmonaires isolés de souris avec une efficacité équivalente sur les trois tissus étudiés. Les valeurs de ED_{50} sont 1.5×10^{-10} moles sur la trachée, 1.3×10^{-10} moles sur les bronches supérieures et 1.9×10^{-10} moles sur les bronches inférieures. L'efficacité du VIP à relaxer les tissus pulmonaires isolés de souris est à peu près équivalente à celle de la PGD_2 .

3.5.3 Effet des endothélines -1, -2 et -3 sur la trachée, les bronches supérieures et inférieures de souris

Aux doses utilisées, les trois endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3 ; 0.3 à 2.5 μ g) induisent des contractions de la trachée, des bronches et du parenchyme pulmonaire de souris. Les contractions induites par les endothélines sont variables, ne dépendent pas de la dose et sont très tachyphylactiques. Par contre, les endothélines semblent être des agonistes contractiles puissants puisque des contractions atteignant 0.9 g ont été observées sur certaines préparations. Des courbes dose-réponse n'ont pu être obtenues donc les valeurs de contraction maximale (E_{\max}) et les doses donnant 50% de la réponse maximale (ED_{50}) n'ont pu être déterminées.

Figure 30 : Relaxations de la trachée (cercles pleins), des bronches supérieures (carré plein) et des bronches inférieures (triangle plein) de souris précontractées avec le carbachol (15 et 30 ng/ml, pour la trachée et les bronches respectivement) suite aux injections du polypeptide vasoactif intestinal (VIP ; 1.5×10^{-11} à 3.0×10^{-9} moles). Abscisse : doses de VIP en moles. Ordonnée : pourcentage de relaxations de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 9 à 13 observations.

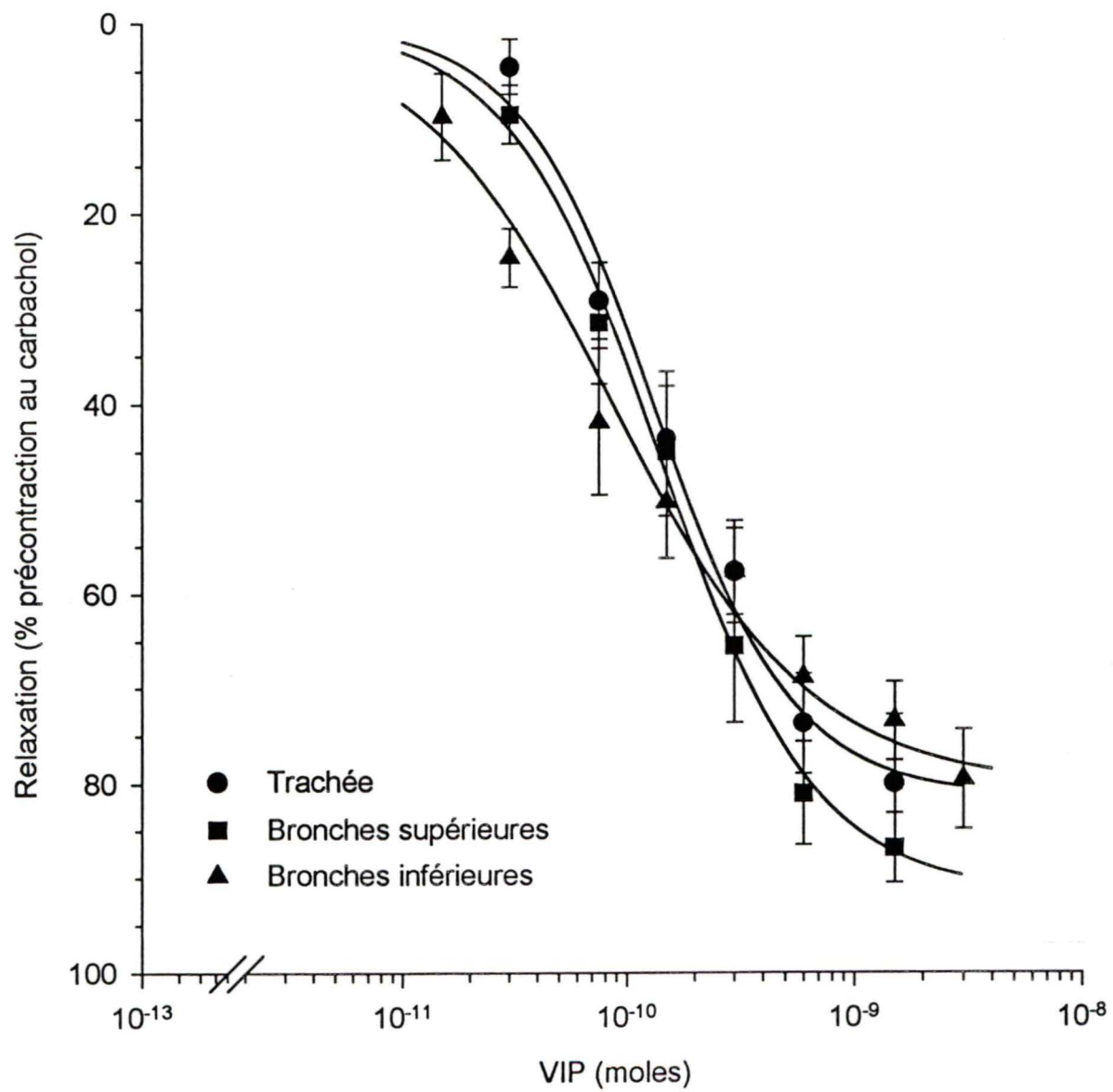


Tableau III. ED₅₀ et E_{max} pour les peptides bioactifs sur les voies respiratoires isolées de souris.

Agoniste	Tissu	Effet	ED ₅₀ moles	Erreur moles	E _{max} % ou g	Erreur % ou g
VIP	Trachée	R	1.35 x10 ⁻¹⁰	1.17 x10 ⁻¹¹	81.4 %	2.34
	Bronches supérieures	R	1.42 x10 ⁻¹⁰	7.2 x10 ⁻¹²	91.7 %	1.77
	Bronches inférieures	R	8.75 x10 ⁻¹¹	2.73 x10 ⁻¹²	78.1 %	1.05
AVP	Trachée	C	5.41 x10 ⁻¹¹	5.51 x10 ⁻¹²	0.85	0.027
	Bronches supérieures	C	5.82 x10 ⁻¹¹	6.02 x10 ⁻¹²	0.72	0.025
	Bronches inférieures	C	1.34 x10 ⁻¹⁰	2.20 x10 ⁻¹¹	0.04	0.019

C, contraction; R, relaxation

3.6 ÉTUDE DES RELAXATIONS INDUITES PAR PGE₂, PGD₂ ET PGF_{2α} SUR LES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS

Il est reconnu que les prostaglandines D₂ et F_{2α} sont des agonistes contractiles des tissus pulmonaires isolés de plusieurs espèces. Par contre, les effets observés chez la souris sont inverses aux autres espèces, c'est-à-dire que la PGD₂ et la PGF_{2α} relaxent les tissus isolés des voies respiratoires chez la souris. De plus, cet effet relaxant des deux prostaglandines n'est pas dépendant de la souche de souris. L'effet de certains inhibiteurs et antagonistes sur les relaxations induites par la PGD₂ et la PGF_{2α} a donc été étudié.

3.6.1 Effet de l'indométacine sur les relaxations induites par PGE₂, PGD₂ et PGF_{2α}

L'effet de l'inhibiteur de la cyclooxygénase indométacine (1×10^{-6} M, en infusion) a été étudié sur les réponses de la trachée et des bronches de souris aux prostaglandines E₂, D₂ et F_{2α}. Les doses de prostaglandines sont données en absence et en présence de l'inhibiteur de la cyclooxygénase sur un même tissu. L'indométacine n'a aucun effet significatif sur la précontraction des tissus au carbachol. En absence et en présence de l'indométacine la prostaglandine E₂ relaxe de façon équivalente la trachée et les bronches de souris. En effet, l'indométacine semble n'avoir aucun effet significatif sur les relaxations induites par la PGE₂. Par contre, en absence d'indométacine, la PGD₂ relaxe de façon efficace la trachée et les bronches tandis qu'en présence d'une infusion d'indométacine de 1×10^{-6} M (concentration finale à laquelle est exposé le tissu) les relaxations induites par la PGD₂ sont complètement abolies. D'autre part, en absence d'indométacine, la PGF_{2α} induit de fortes relaxations de la

trachée et des bronches, mais lorsque le tissu est traité à l'indométacine, les relaxations induites par la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sont complètement supprimées. En bref, en absence de l'inhibiteur de la cyclooxygénase indométacine, la PGE_2 , la PGD_2 et la $\text{PGF}_{2\alpha}$ induisent des relaxations de la trachée et des bronches et en présence de l'indométacine seulement la PGE_2 relaxe les tissus tandis que l'effet des deux autres prostaglandines est aboli (Figure 31).

3.6.2 Effet du naproxène sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$

Afin de vérifier si l'effet de l'indométacine était un effet spécifique, un autre inhibiteur de la cyclooxygénase, le naproxène est utilisé pour étudier les relaxations induites par les prostaglandines. Afin de pouvoir comparer l'effet du naproxène sur les relaxations induites par les prostaglandines, celles-ci sont injectées en absence et en présence de l'infusion de l'inhibiteur sur une même préparation. En présence de naproxène, comme en présence d'indométacine, (1×10^{-6} M, concentration finale à laquelle est exposé le tissu) la PGE_2 relaxe la trachée et les bronches de la même façon que lorsque l'inhibiteur n'est pas présent. D'autre part, les relaxations induites par la PGD_2 sont complètement inhibées en présence du naproxène. De plus, en présence de naproxène la $\text{PGF}_{2\alpha}$ perd complètement son effet relaxant au niveau de la trachée et des bronches (Figure 32). Ces résultats confirment ceux observés avec l'indométacine.

3.6.3 Effet de l'antagoniste du récepteur EP_4 de la prostaglandine E_2 sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$

Étant donné que la PGE_2 conserve ses propriétés relaxantes en présence d'inhibiteurs de la cyclooxygénase et que la PGD_2 et la $\text{PGF}_{2\alpha}$ perdent ces propriétés, la possibilité que ces dernières agissent par la relâche de PGE_2 endogène a été vérifiée. De plus, il y a quatre sous-

Figure 31 : Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la cyclooxygénase indométacine (1×10^{-6} M) sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol (15 et 30 ng/ml respectivement) suite aux injections de prostaglandine (PG) E_2 (A), PGD_2 (B) et $PGF_{2\alpha}$ (C). Les têtes de flèches indiquent le moment où la prostaglandine a été injectée.

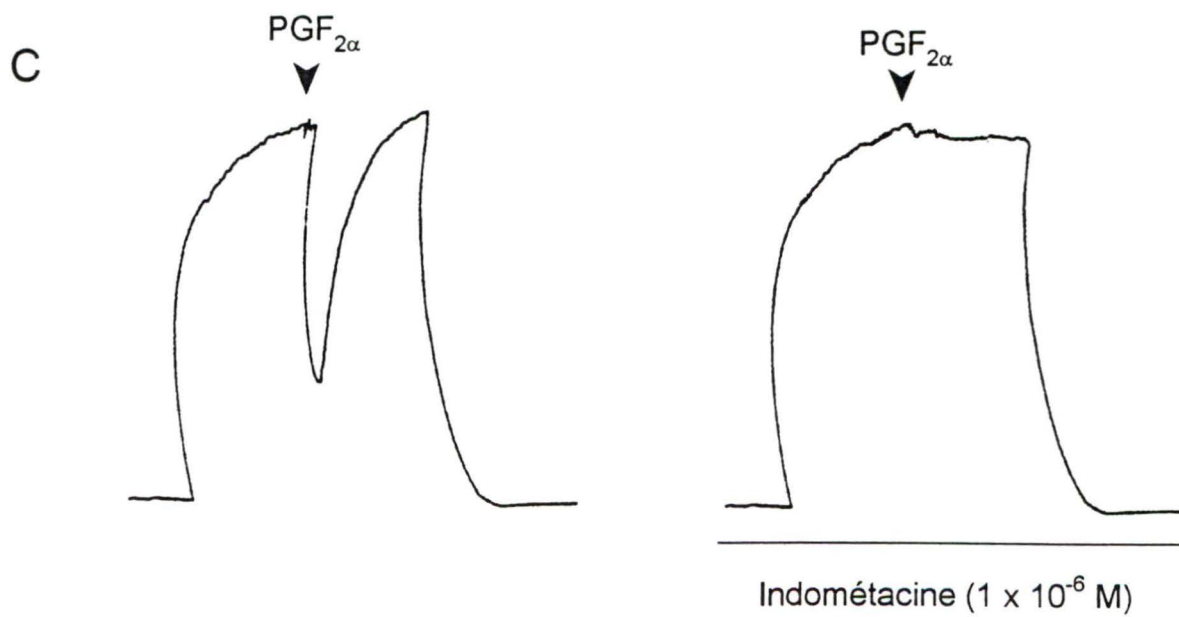
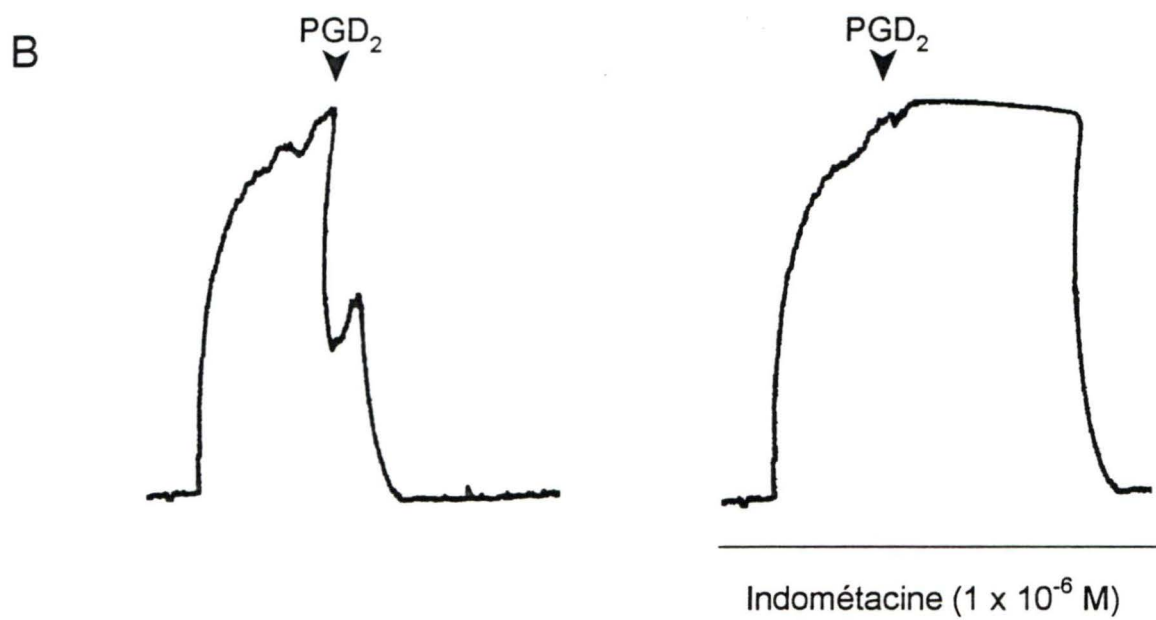
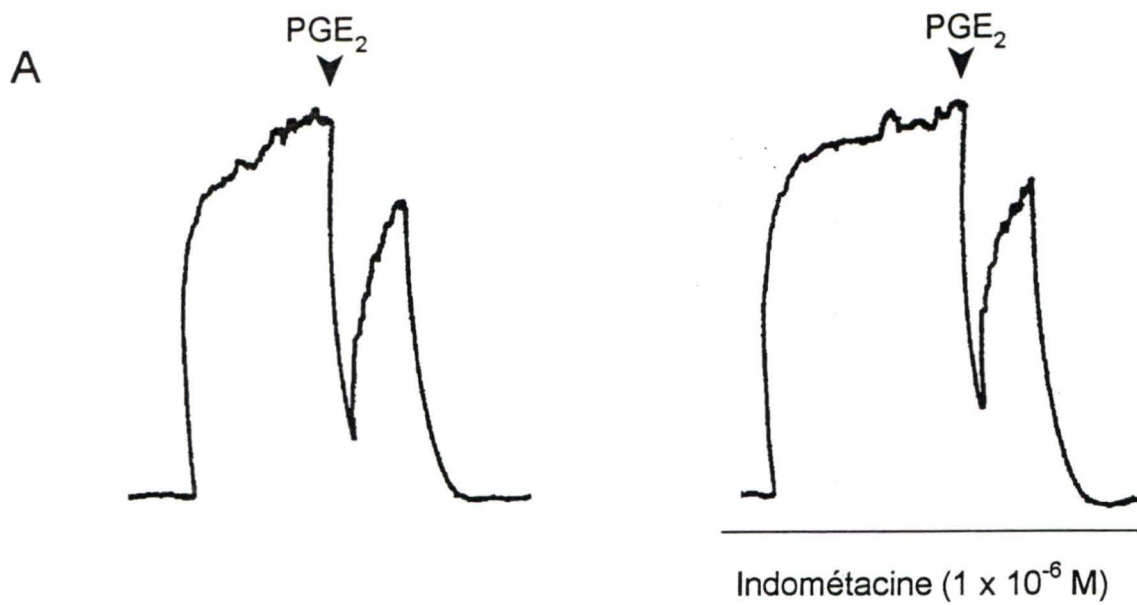
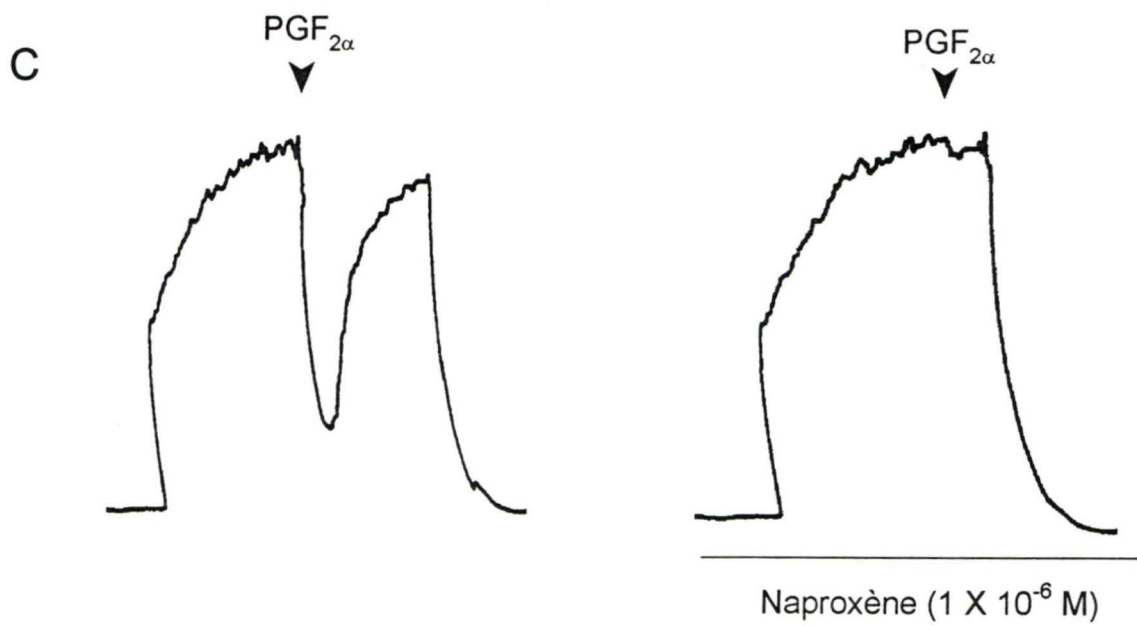
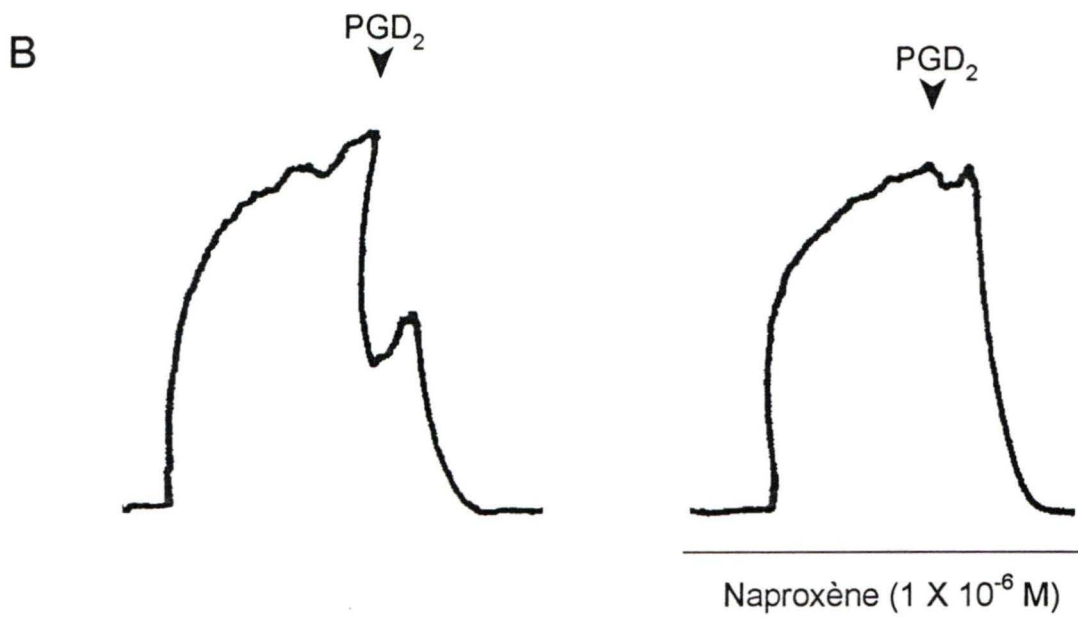
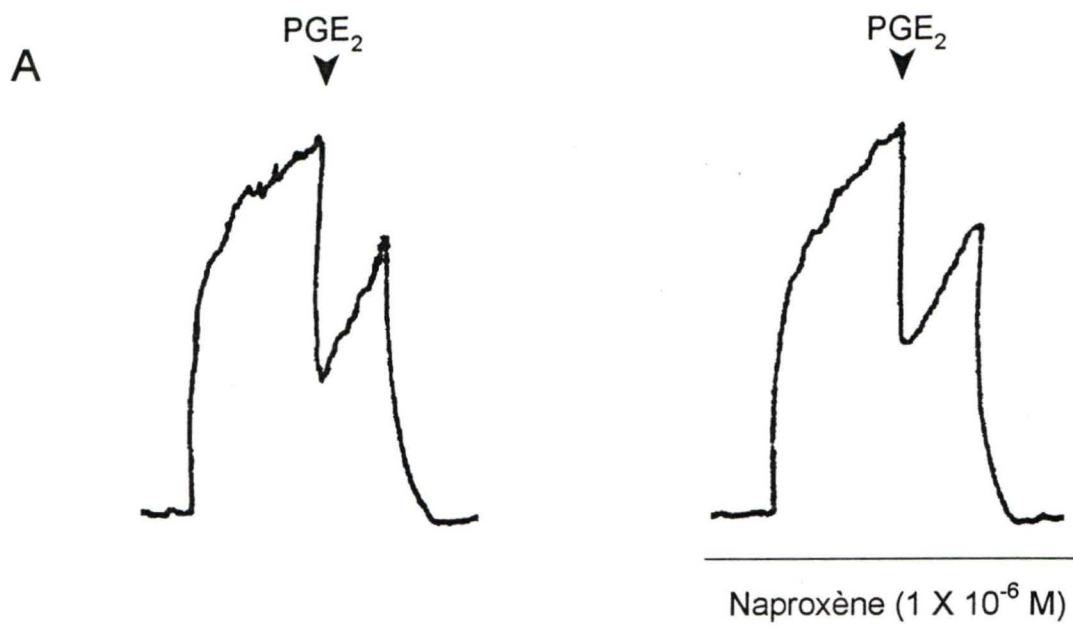


Figure 32 : Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la cyclooxygénase naproxen (1×10^{-6} M) sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol (15 et 30 ng/ml respectivement) suite aux injections de prostaglandine (PG) E_2 (A), PGD_2 (B) et $PGF_{2\alpha}$ (C). Les têtes de flèches indiquent le moment où la prostaglandine a été injectée.



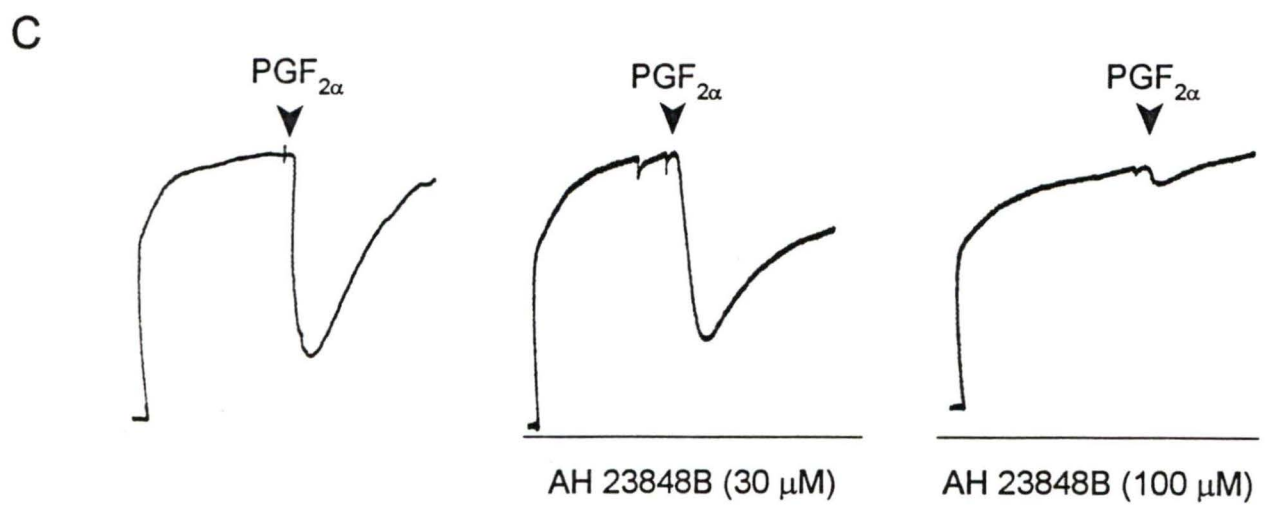
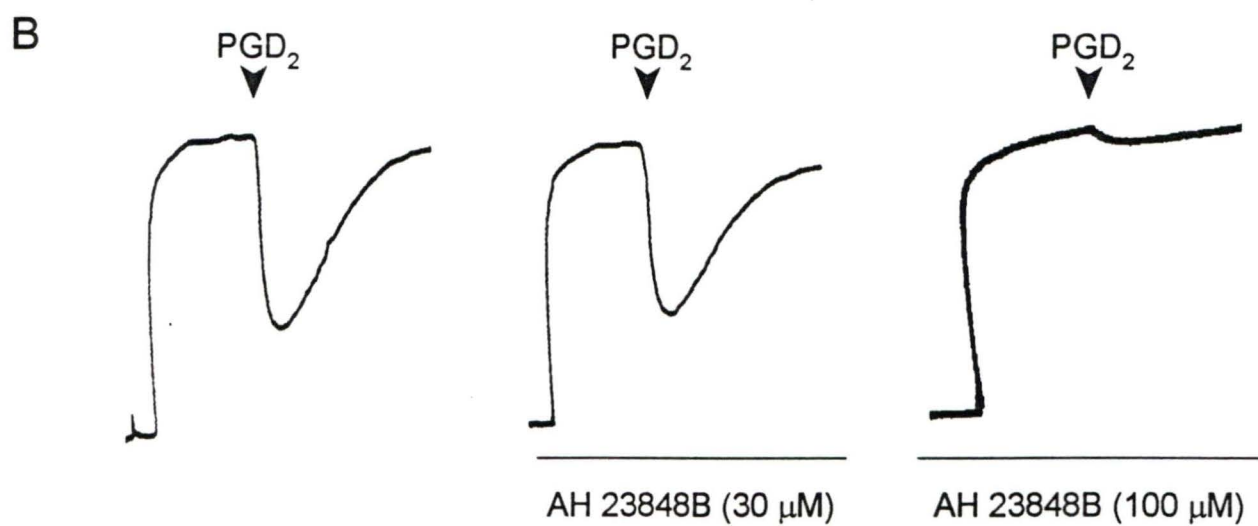
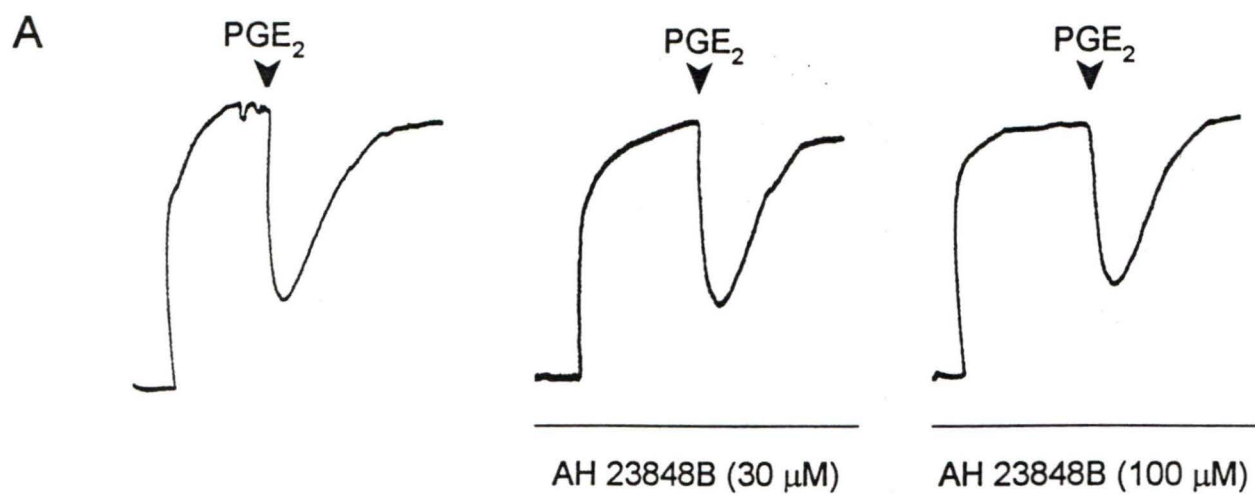
types de récepteurs pour la PGE_2 . Deux de ces sous-types, le récepteur EP_1 et le récepteur EP_3 agissent via l'augmentation du calcium intracellulaire et induisent donc des réponses contractiles (dans certains cas le récepteur EP_3 agit via l'AMPc). Les deux autres sous-types, le récepteur EP_2 et le récepteur EP_4 agissent via l'augmentation de l'AMPc pouvant donc induire des réponses relaxantes au niveau des muscles lisses. Étant donné qu'à l'heure actuelle il n'y a pas d'antagonistes des récepteurs EP_2 , l'implication possible du récepteur EP_4 a été vérifiée.

L'effet de l'antagoniste des récepteurs EP_4 AH 23848B sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ a été étudié. À la dose de 30×10^{-6} M, le AH 23848B ne modifie pas les réponses induites par la prostaglandine E_2 . De plus, à cette même dose, les réponses aux prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ ne sont pas inhibées significativement. Par contre, à la dose de 100 μ M, les relaxations induites par la prostaglandine E_2 ne sont pas inhibées significativement, mais les réponses aux prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ sont complètement abolies (Figure 33).

3.6.4 Effet de l'inhibiteur de la synthase de l'oxyde nitrique (NOS) L-NAME sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ sur les tissus pulmonaires isolés de souris

Afin de vérifier la possibilité que les relaxations induites par les prostaglandines soient médiées par la relâche du puissant facteur relaxant qu'est l'oxyde nitrique, les tissus ont été soumis à un inhibiteur de la synthase de l'oxyde nitrique (L-NAME). Les prostaglandines sont injectées en absence et en présence de l'inhibiteur sur un même tissu pour faciliter la comparaison des relaxations. À la dose utilisée, le L-NAME (1×10^{-3} M) n'inhibe pas les relaxations induites par des doses submaximales de prostaglandine E_2 , ni celles induites par des doses submaximales de prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ (Figure 34). De plus, afin de s'assurer que

Figure 33 : Tracés-types de l'effet de l'antagoniste des récepteurs EP₄ (30 µM et 100 µM) sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol (4 µM) suite aux injections de prostaglandine (PG) E₂ (A), PGD₂ (B) et PGF_{2α} (C) dans un système de bains à tissus isolés. Les têtes de flèches indiquent le moment où la prostaglandine a été injectée.



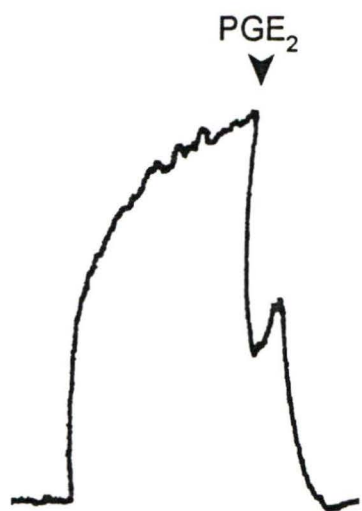
l'oxyde nitrique agit effectivement de façon à relaxer l'arbre trachéo-bronchique de souris, les tissus ont été exposés à une dose de 1×10^{-6} moles de nitroprussiate de sodium (SNP ; donneur d'oxyde nitrique). À cette dose, le SNP induit des relaxations très puissantes de la trachée et des bronches, équivalentes à celles induites par les doses maximales des trois prostaglandines étudiées.

3.6.5 Effet de la polyphlorétine phosphatée sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ sur la trachée et les tissus pulmonaires isolés de souris

Nous avons utilisé la polyphlorétine phosphatée (PPP ; 20 $\mu\text{g/ml}$), un antagoniste non-sélectif des récepteurs de la prostaglandine E_2 et de la prostaglandine $F_{2\alpha}$, pour étudier davantage les relaxations induites par les prostaglandine E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ sur la trachée et les bronches isolées de souris. À la dose utilisée, la polyphlorétine phosphatée n'a aucun effet significatif sur les relaxations induites par la E_2 (100 ng) sur les anneaux de trachée et les anneaux de bronches. En absence de PPP, la trachée relaxe de 93.5 ± 3.5 % de la précontraction et en présence de l'antagoniste les relaxations atteignent 91.2 ± 4.0 % de la précontraction (Figure 35a). Au niveau des bronches, en absence d'antagoniste les relaxations à la PGE_2 (100 ng) sont de 92.2 ± 2.9 % de la précontraction et avec l'antagoniste celles-ci atteignent 92.0 ± 5.0 % de la précontraction (Figure 35b). Les résultats en présence de PPP sont pour ainsi dire identiques à ceux obtenus en absence de l'antagoniste que ce soit pour la trachée ou les bronches. Par contre, les relaxations induites par la prostaglandine D_2 (200 ng) sont réduites de plus de la moitié en présence de PPP au niveau de la trachée et environ d'un quart au niveau des bronches. En effet, en absence de PPP, la trachée relaxe de 49.5 ± 2.3 % de la précontraction

Figure 34 : Tracés-types de l'effet de l'inhibiteur de la synthèse de l'oxyde nitrique L-NAME (1×10^{-3} M) sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris précontractées au carbachol (15 et 30 ng/ml respectivement) suite aux injections de prostaglandine (PG) E₂ (A), PGD₂ (B) et PGF_{2 α} (C). Les têtes de flèches indiquent le moment où la prostaglandine a été injectée.

A



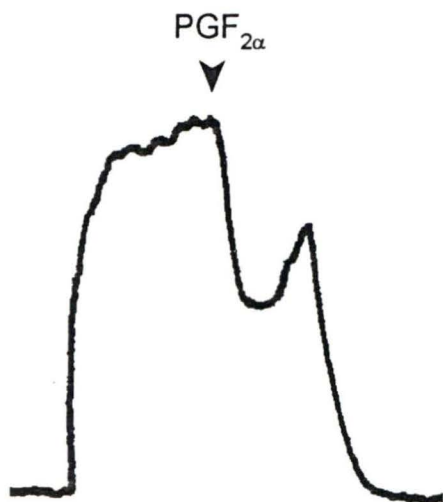
L-NAME (1×10^{-3} M)

B



L-NAME (1×10^{-3} M)

C



L-NAME (1×10^{-3} M)

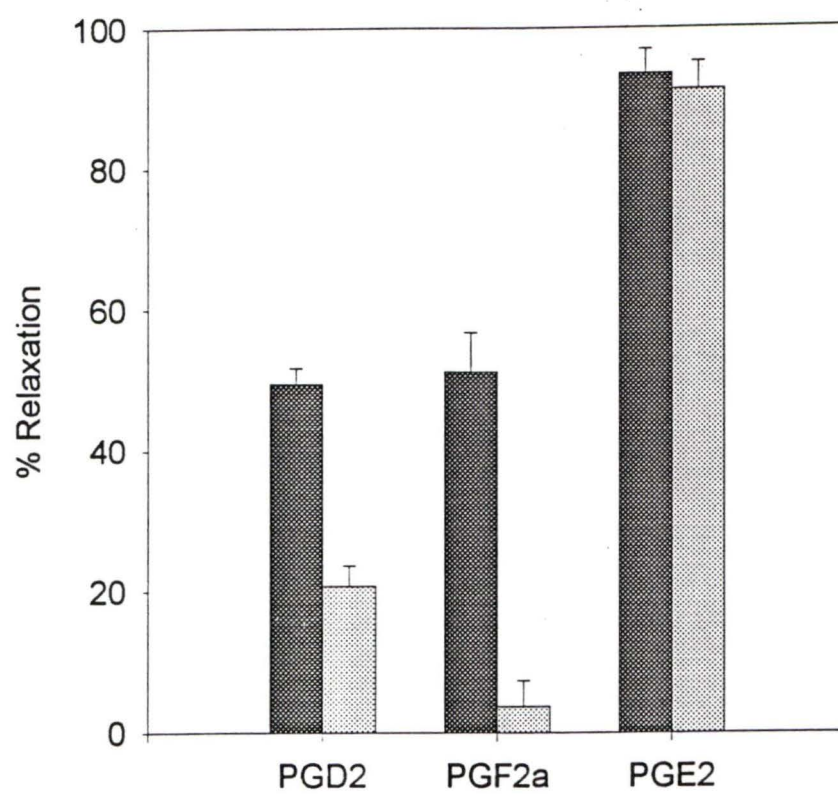
tandis qu'en présence de l'antagoniste, les relaxations atteignent seulement 20.8 ± 2.9 % de la précontraction (Figure 35a). En absence de PPP, la PGD_2 induit des relaxations des bronches de 57.6 ± 2.0 % de la précontraction et en présence de l'antagoniste les relaxations atteignent 43.8 ± 1.6 % de la précontraction (Figure 35b). Cet effet inhibiteur de la PPP est beaucoup plus prononcé au niveau des relaxations induites par la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$ sur la trachée et les bronches. En absence de PPP, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (20 ng) induit des relaxations de 51.2 ± 5.6 % de la précontraction, tandis qu'en présence de l'antagoniste ces relaxations atteignent seulement 3.6 ± 2.6 % de la précontraction (Figure 35a). Au niveau des bronches, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ induit des relaxations de 75.4 ± 1.3 % de la précontraction en absence de PPP, tandis qu'en présence de l'antagoniste les relaxations atteignent seulement 12.8 ± 0.9 % de la précontraction (Figure 35b).

3.7 HYPERRÉACTIVITÉ PULMONAIRE AU CARBACHOL *IN VIVO* INDUITE PAR L'OVALBUMINE CHEZ LA SOURIS BALB/C SENSIBILISÉE

Les souris sensibilisées à l'ovalbumine sur une période de 12 jours présentent une hyperréactivité pulmonaire marquée au carbachol par rapport aux témoins. En effet, 24 heures suite à l'exposition des souris sensibilisées à l'allergène (ovalbumine ; OVA), on observe une augmentation marquée de la pression d'insufflation pulmonaire (PIP) induite par le carbachol presque à toutes les doses par rapport aux souris témoins (Figure 36a,b). Par contre, la PIP basale n'est pas altérée significativement chez les souris traitées à l'ovalbumine 24 heures après exposition à l'ovalbumine. De plus il n'y a pas de différence significative dans les pressions

Figure 35 : Relaxations de la trachée (A) et des bronches (B) de souris précontractées avec le carbachol (15 et 30 ng/ml respectivement) suite aux injections de prostaglandine (PG) D_2 (200 ng), de prostaglandine $F_{2\alpha}$ (20 ng) et de prostaglandine E_2 (100 ng) en absence (colonnes vides) et en présence (colonnes pleines) de polyphlorétine phosphatée (PPP ; 20 μ g/ml). Abscisse : prostaglandines (en moles). Ordonnée : pourcentage de relaxations de la précontraction. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 7 à 10 observations.

A



B

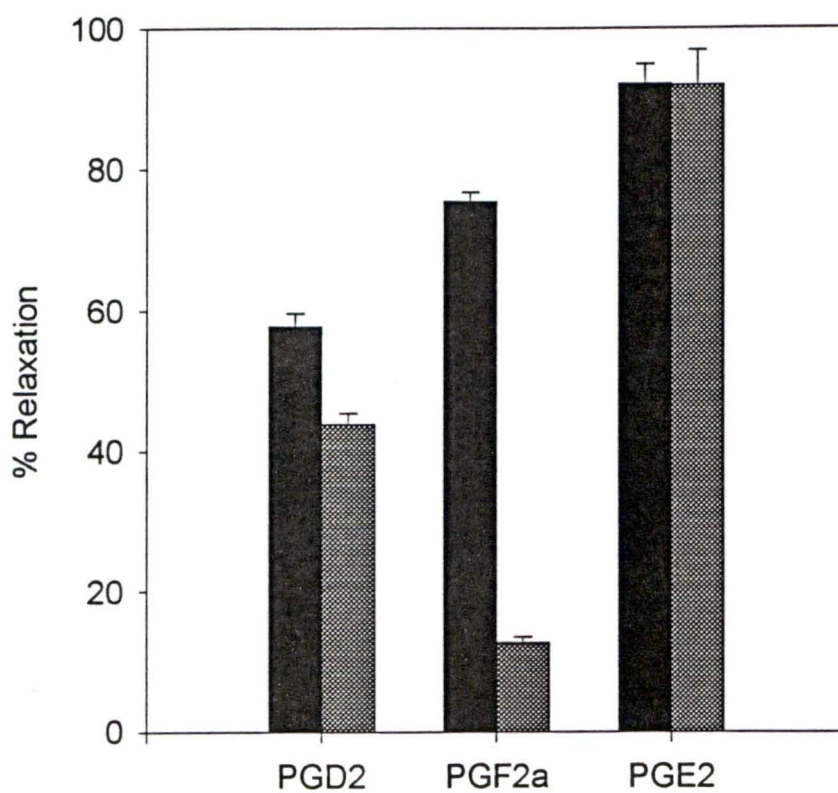
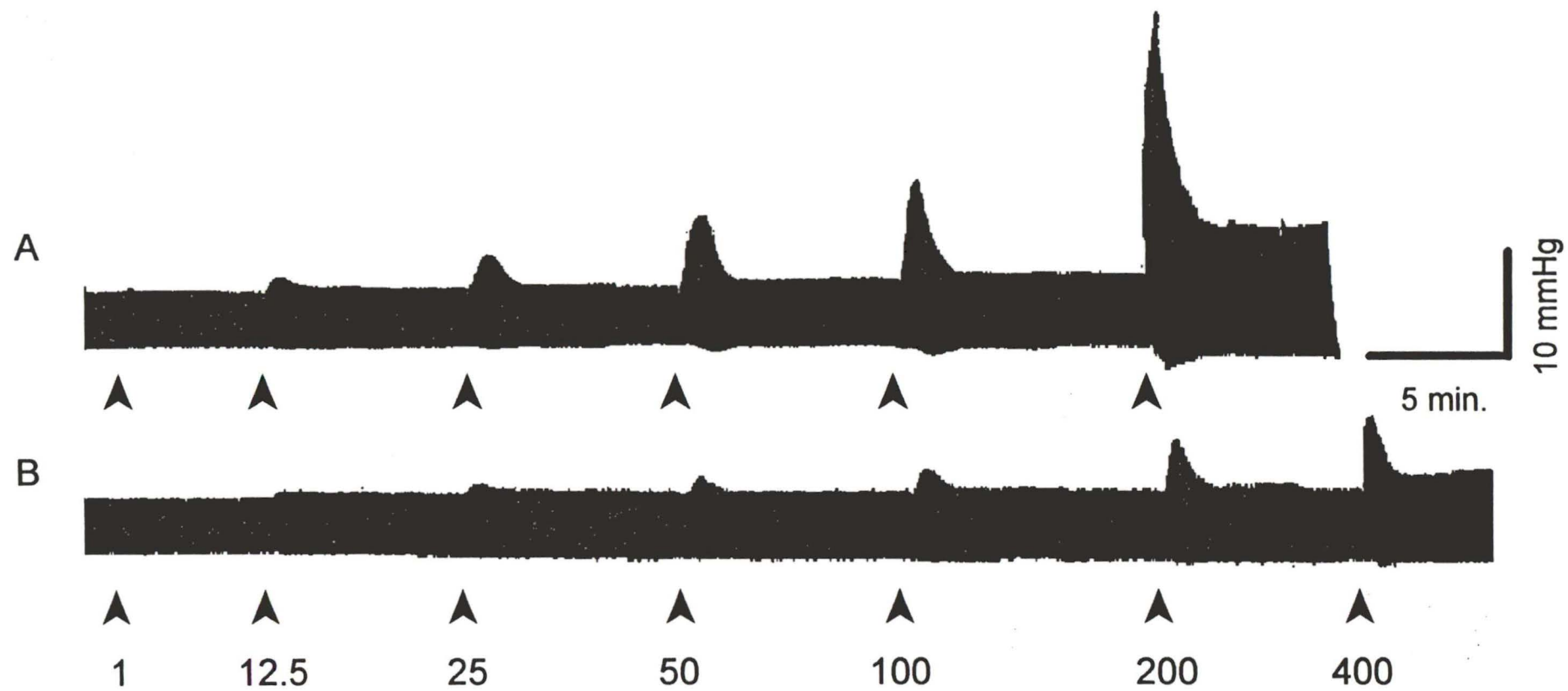


Figure 36 : Tracé-type de la pression d'insufflation pulmonaire chez la souris BALB/c sensibilisée et exposée à l'ovalbumine (A) et chez la souris BALB/c témoin (B) suite aux injections intraveineuses bolus de carbachol (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$). Effet de l'injection intraveineuse d'ovalbumine sur la pression artérielle chez la souris BALB/c sensibilisée et exposée à l'ovalbumine (C) et la souris BALB/c témoin.



Carbachol ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)

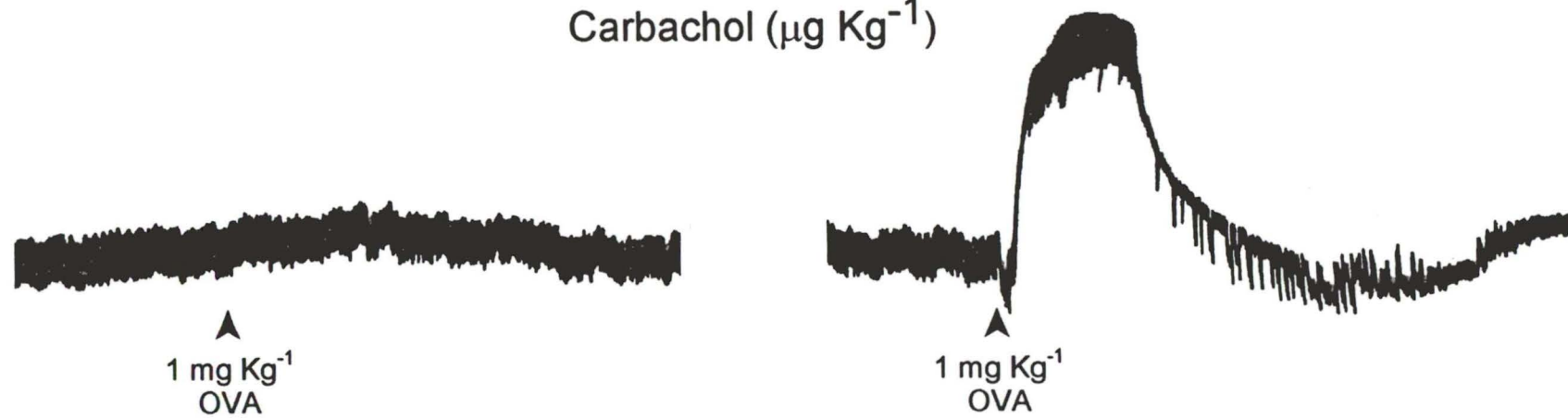
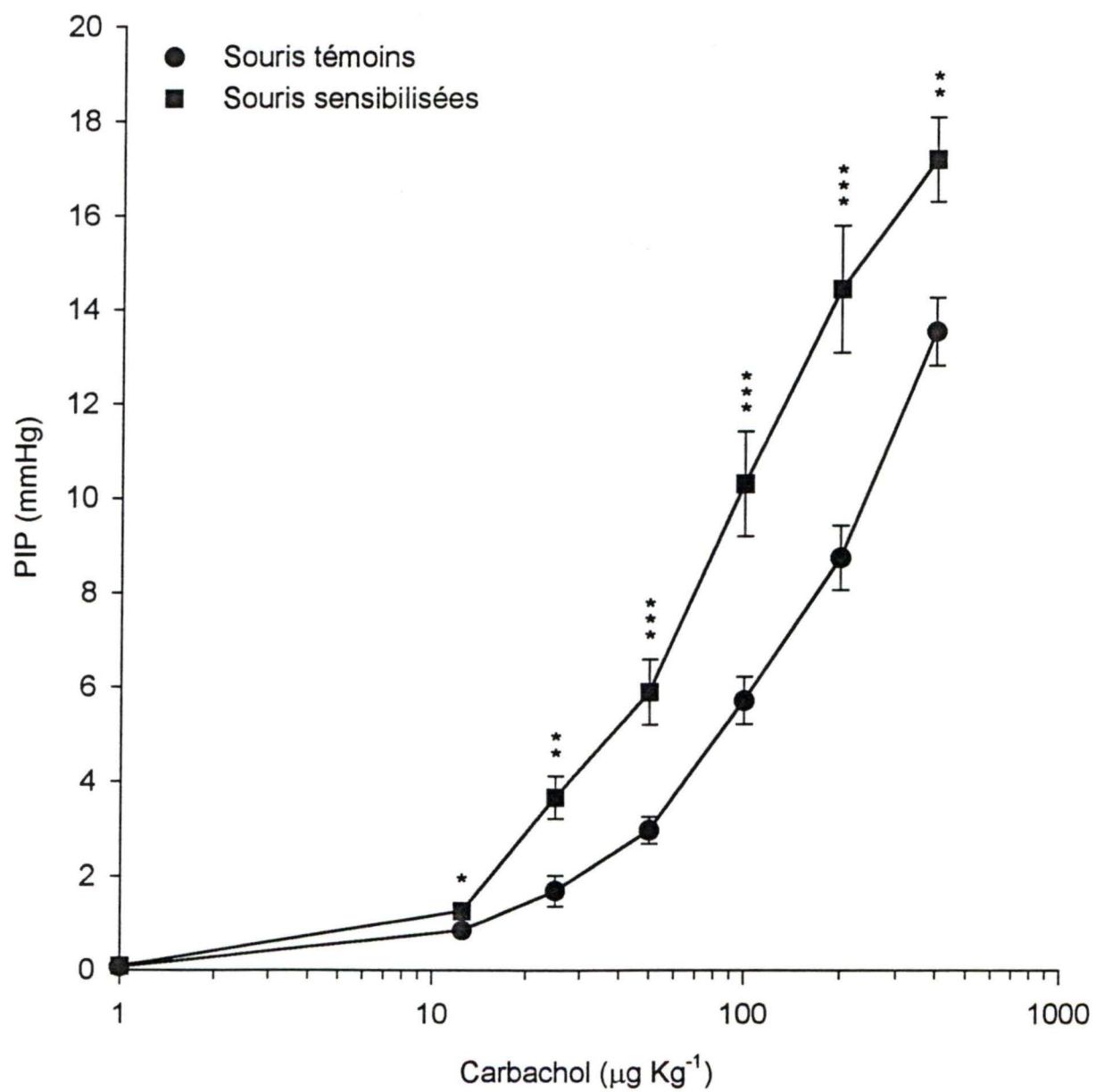


Figure 37 : Hyperréactivité pulmonaire chez les souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine. Bronchoconstrictions suivant l'injection du bronchoconstricteur de référence carbachol (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) chez les souris sensibilisées (cercles pleins) et chez les souris témoins (carrés pleins). Abscisse : doses de carbachol en $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Ordonnée : pression d'insufflation pulmonaire (PIP) en mm Hg. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 9 à 31 observations.

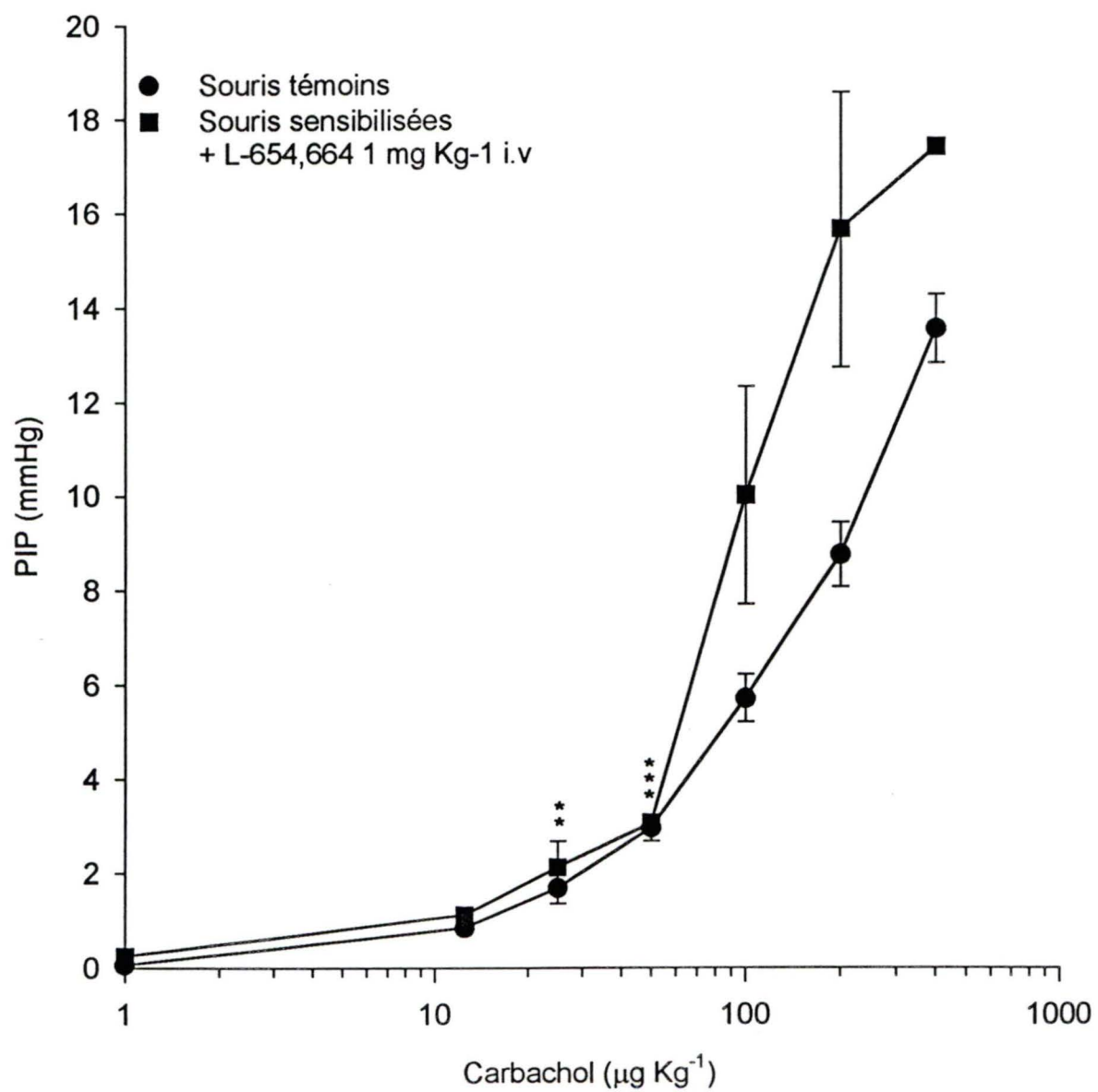


artérielles chez les souris traitées (72 ± 15 mm Hg) et chez les souris témoins (65 ± 12 mm Hg). Chez les souris sensibilisées, par contre, on observe une augmentation significative de la pression artérielle suivant l'injection intraveineuse d'ovalbumine (1 mg Kg^{-1}), alors que chez les souris témoins cette augmentation est inexistante (Figure 36c,d). Suite la l'injection intraveineuse d'ovalbumine, une augmentation significative de la réactivité pulmonaire au carbachol (1 à $400 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$) est observée chez les souris sensibilisées 24 heures suivant leur exposition à l'ovalbumine en aérosol (Figure 37). Le carbachol (1 à $400 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$) induit des augmentations de la PIP de 0.06 ± 0.06 mm Hg à 13.52 ± 0.72 mm Hg chez les animaux témoins ($n = 13$) et de 0.08 ± 0.04 mm Hg à 17.17 ± 0.88 mm Hg chez les souris sensibilisées ($n = 9-31$). De plus, on observe un déplacement vers la gauche de la courbe dose-réponse obtenue chez les souris sensibilisées par rapport à celle obtenue chez les souris témoins indiquant non seulement une hyperréactivité, mais aussi une hypersensibilité des voies respiratoires des souris suite à la sensibilisation.

3.7.1 Effet de l'antagoniste des récepteurs du thromboxane A_2 L-654,664 sur l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées

Afin de vérifier si l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées est causée par la relâche de thromboxane A_2 suite la l'injection intraveineuse d'ovalbumine (caractérisée par une forte augmentation de la pression artérielle), nous avons utilisés un antagoniste des récepteurs du thromboxane A_2 . À la dose utilisée, le L-654,664 (1 mg Kg^{-1} , 5 minutes avant l'injection i.v. d'ovalbumine) élimine ($P < 0.05$) l'hyperréactivité pulmonaire au carbachol aux doses de 1 à 50 mg Kg^{-1} (Figure 38). Malgré la présence de l'antagoniste, l'hyperréactivité est maintenue aux plus fortes doses de carbachol (100 à $400 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$). À ces

Figure 38 : Effet de l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 (1 mg Kg^{-1} , 5 minutes avant l'injection intraveineuse d'ovalbumine) sur l'hyperréactivité pulmonaire des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine. Bronchoconstrictions suivant l'injection du bronchoconstricteur de référence carbachol (1 à $400 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$) chez les souris sensibilisées et traitées au L-654,664 (cercles pleins) et chez les souris témoins (carrés pleins). Abscisse : doses de carbachol en $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Ordonnée : pression d'insufflation pulmonaire (PIP) en mm Hg. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 6 à 9 observations.

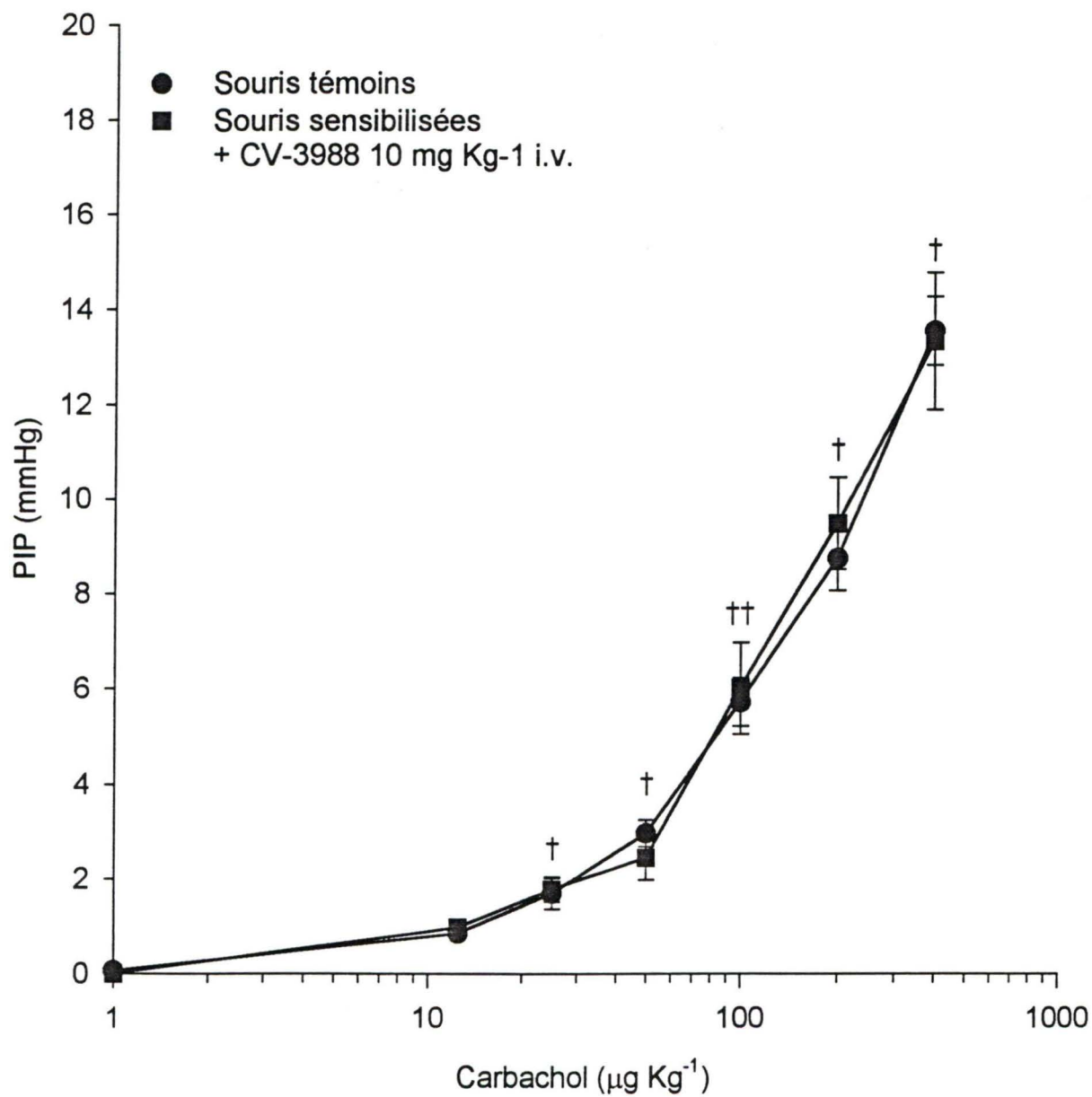


doses de carbachol, les valeurs de PIP sont de 10.0 à 17.4 mm Hg ce qui atteint les valeurs observées chez les souris sensibilisées hyperréactives n'ayant subi aucun traitement au L-654,664. De plus, cet antagoniste n'a aucun effet sur l'augmentation de la pression artérielle observée suite à l'injection intraveineuse d'ovalbumine.

3.7.2 Effet de l'antagoniste du facteur d'activation plaquettaire CV 3988 sur l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées

Afin de vérifier le rôle possible du facteur d'activation plaquettaire (PAF) dans l'hyperréactivité observée chez les souris sensibilisées et exposées à l'allergène, nous avons utilisés l'antagoniste du PAF CV 3988 à la dose intraveineuse de $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$ 5 minutes avant l'injection de l'ovalbumine (1 mg Kg^{-1} , i.v.). À cette dose, le CV 3988 n'altère pas la hausse de pression artérielle observée suite la l'injection i.v. d'ovalbumine. Par contre, l'antagoniste du PAF abolit complètement ($P < 0.01$) l'hyperréactivité observée 24 heures suivant l'aérosol d'ovalbumine et 15 minutes suivant l'injection i.v. d'ovalbumine chez les souris sensibilisées sur toute l'étendue de la courbe dose-réponse au carbachol (1 à $400 \mu\text{g Kg}^{-1}$) (Figure 39). En effet, chez les souris sensibilisées n'ayant reçu aucun traitement au CV 3988 les valeurs de PIP s'étendent de 0.08 mm Hg à 17.17 mm Hg tandis que chez les souris sensibilisées et traitées au CV 3988 les valeurs de PIP (0 à 13.3 mm Hg) sont maintenues au niveau de celles observées chez les souris témoins non-sensibilisées (0.06 à 13.5 mm Hg).

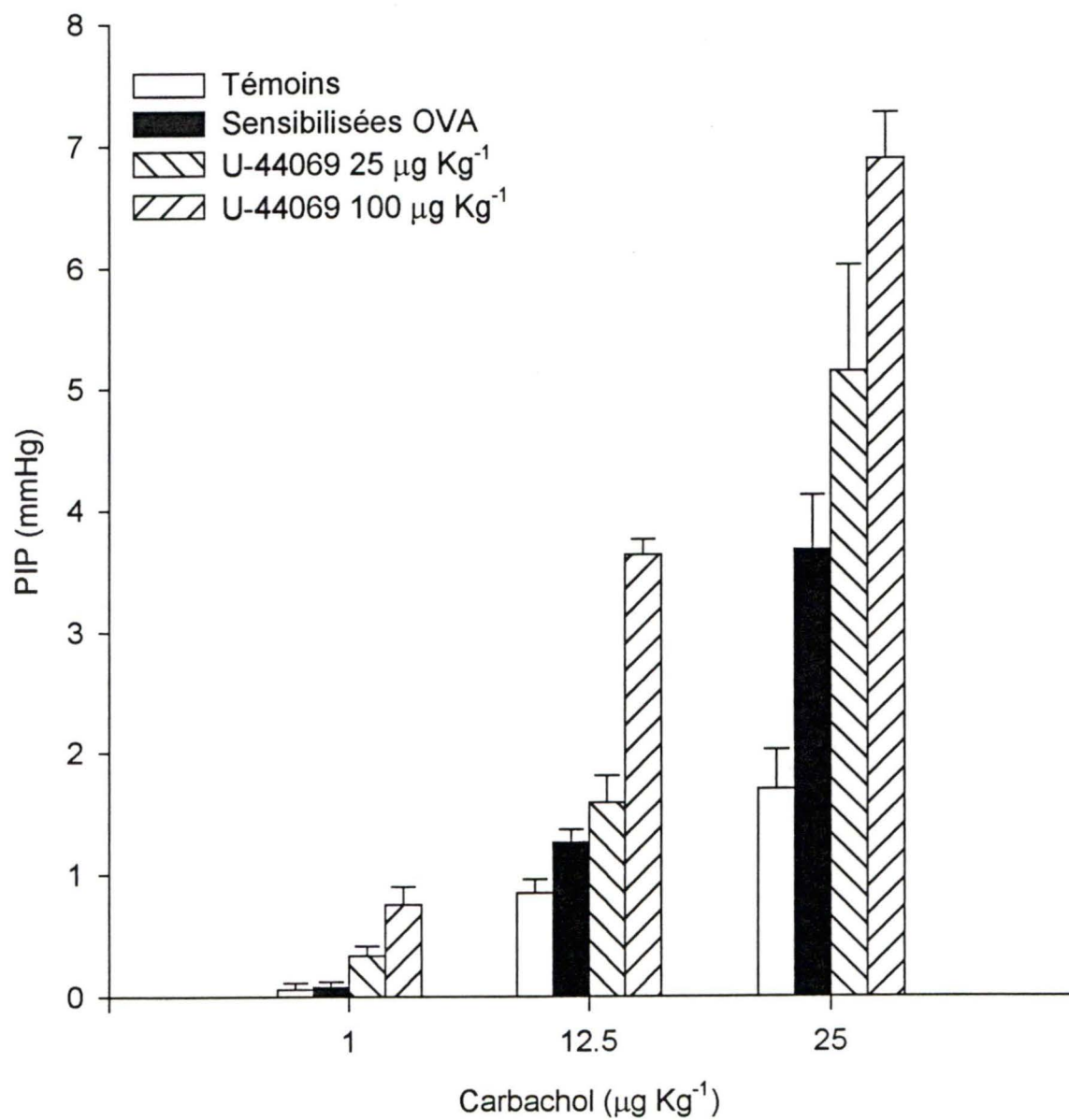
Figure 39 : Effet de l'antagoniste du facteur d'activation plaquettaire (PAF) CV 3988 ($10 \mu\text{g Kg}^{-1}$, 5 minutes avant l'injection intraveineuse d'ovalbumine) sur l'hyperréactivité pulmonaire des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine. Bronchoconstrictions suivant l'injection du bronchoconstricteur de référence carbachol (1 à $400 \mu\text{g Kg}^{-1}$) chez les souris sensibilisées et traitées au CV 3988 (cercles pleins) et chez les souris témoins (carrés pleins). Abscisse : doses de carbachol en $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Ordonnée : pression d'insufflation pulmonaire (PIP) en mm Hg. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 9 à 13 observations.



3.7.3 Effet d'une injection intraveineuse d'un analogue du thromboxane A₂ (U-44069) chez les souris BALB/c naïves

Afin de vérifier davantage l'implication du thromboxane A₂ dans l'hyperréactivité pulmonaire chez la souris, l'effet d'une injection intraveineuse de U-44069 chez les souris naïves a été étudiée. Le composé U-44069 25 ou 100 µg Kg⁻¹ i.v. a été injecté à des souris naïves 5 minutes avant les doses de carbachol (1, 12.5 et 25 µg Kg⁻¹). À ces doses, le composé U-44069 induit une hyperréactivité pulmonaire chez les souris non sensibilisées (Figure 40). En effet, à 25 µg Kg⁻¹ le composé U-44069 augmente la réactivité pulmonaire de 578 % à la dose de 1 µg Kg⁻¹ de carbachol, de 187 % à la dose de 12.5 µg Kg⁻¹ de carbachol et de 303 % à la dose de 25 µg Kg⁻¹ de carbachol par rapport aux souris n'ayant reçu aucun traitement au U-44069. À 100 µg Kg⁻¹ le composé U-44069 augmente la réactivité pulmonaire de 1300 % à la dose de 1 µg Kg⁻¹ de carbachol, de 428 % à la dose de 12.5 µg Kg⁻¹ de carbachol et de 406 % à la dose de 25 µg Kg⁻¹ de carbachol lorsque comparé aux souris témoins. Aux mêmes doses de carbachol, l'hyperréactivité observée suite à l'exposition des souris sensibilisées à l'ovalbumine est de 140, 149 et 216 % respectivement. On observe alors que l'administration i.v. de l'analogue du thromboxane A₂ donne une hyperréactivité pulmonaire de façon dépendante de la dose, et plus marquée que celle observée chez les souris sensibilisées et exposées à l'allergène. Par contre, l'efficacité du composé U-44069 à augmenter la réactivité pulmonaire n'est apparente que pour les doses plus faibles de carbachol (1 à 50 µg Kg⁻¹).

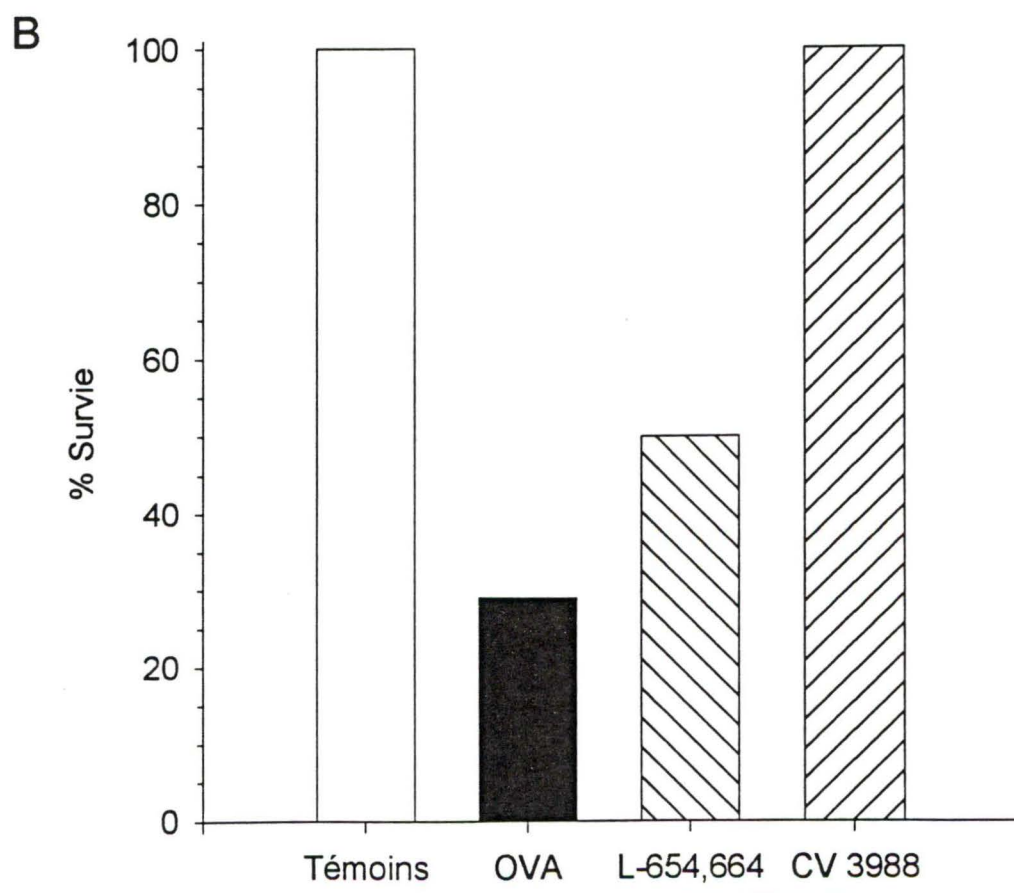
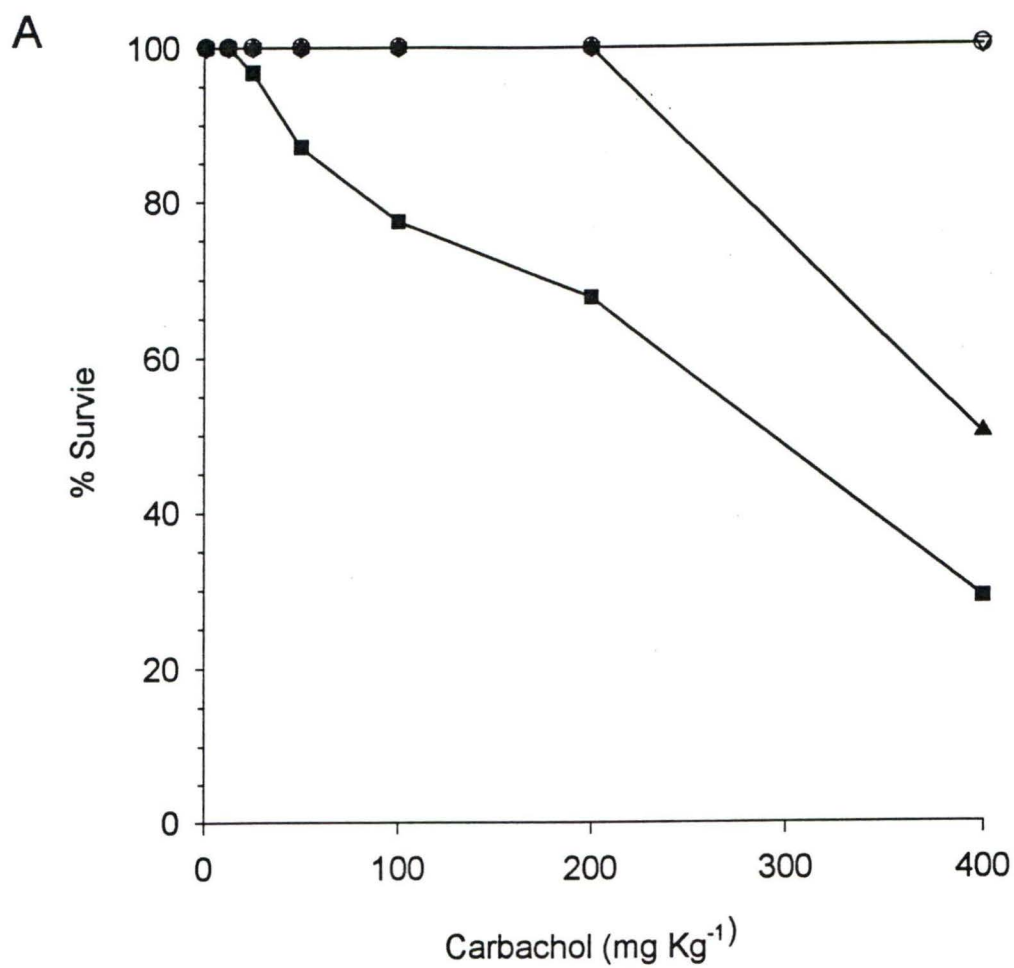
Figure 40 : Hyperréactivité pulmonaire chez la souris naïve suite au traitement intraveineux avec l'analogue du thromboxane A_2 U-44069 (25 et 100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$). Bronchoconstrictions suivant l'injection du bronchoconstricteur de référence carbachol (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) chez les souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine (colonnes pleines), chez les souris témoins (colonnes vides), chez les souris naïves traitées avec le U-44069 25 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (colonnes hachurées vers la droite) et chez les souris traitées avec le U-44069 100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (colonnes hachurées vers la gauche). Abscisse : doses de carbachol en $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Ordonnée : pression d'insufflation pulmonaire (PIP) en mm Hg. Les valeurs sont des moyennes \pm erreurs-type de 9 à 13 observations.



3.7.5 Effet protecteur de l'antagoniste du thromboxane A₂ L-654,664 et de l'antagoniste du PAF CV 3988

L'hyperréactivité pulmonaire induite par l'ovalbumine témoignée par la courbe dose-réponse au carbachol (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) devient létale à la dose de 25 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ de carbachol. Cette létalité augmente en fonction de la dose de carbachol et est plus marquée aux plus fortes doses de la courbe dose-réponse. En effet, chez les souris sensibilisées et exposées à l'allergène 24 heures (aérosol) et 15 minutes (i.v.) avant la courbe dose-réponse au carbachol, à 25 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ de carbachol 96 % des souris survivent à cette dose. Ensuite, plus la dose de carbachol est forte, plus la mortalité augment. À 50 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, 87 % des souris survivent, à 100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, 77 % des souris survivent, à 200 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ 68 % des souris survivent et à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ seulement 29 % des souris survivent à cette dose (Figure 41). Lorsque les souris sensibilisées sont traitées avec le L-654,664 (1 mg Kg^{-1} , i.v.) la mortalité des souris est abolie pour les doses de 1 à 200 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ de carbachol et à la dose de 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ la survie est augmentée de 29 % à 50 %. D'autre part, lorsque les souris sensibilisées sont traitées avec le CV 3988 (10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, i.v.), non seulement l'hyperréactivité est complètement abolie, mais le taux de survie est restauré à 100 % sur toute la courbe au carbachol (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$).

Figure 41 : Survie des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine suite aux différents traitements. Les souris témoins ont un taux de survie de 100 % sur courbe dose-réponse au carbachol complète. Sont présentées en A, le taux de survie de la courbe de carbachol des souris témoins (cercles ouverts), le taux de survie des souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine (carrés fermés), le taux de survie des souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine traitées avec 1 mg Kg⁻¹ de L-654,664 (triangles vers le bas ouverts) et le taux de survie des souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine traitées avec 10 µg Kg⁻¹ de CV 3988 (triangles ouverts). En B est présenté le taux de survie des souris BALB/c sensibilisées et exposées à l'ovalbumine suite aux différents traitements à la dose finale de la courbe de carbachol (400 µg Kg⁻¹). Pour les souris témoins (colonne ouverte), pour les souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine (colonne pleine), pour les souris traitées au L-654,664 (colonne hachurée vers la droite) et pour les souris traitées au CV 3988 (colonnes hachurée vers la gauche). Abscisse : doses de carbachol (µg Kg⁻¹; A), traitements (B). Ordonnée : pourcentage de survie des souris. Les valeurs sont des moyennes ± erreurs-type de 6 à 31 observations.



DISCUSSION

Durant les vingt dernières années l'immunologie de la souris a été largement étudiée permettant ainsi de connaître une panoplie de mécanismes et de molécules impliquées dans différentes réactions immunologiques. Plus récemment, l'étude de la génétique de la souris a pris de l'expansion surtout au niveau du développement de techniques permettant de produire des souris déficientes en certains gènes (souris « knock-out » ou « knock-down »). Ces connaissances immunologiques et génétiques chez la souris en font un modèle très intéressant pour l'étude de l'asthme que ce soit au niveau de certaines molécules ou de l'implication de certains gènes dans la maladie. De plus, l'intérêt d'utiliser les tissus pulmonaires de souris dans le domaine de la recherche sur l'asthme n'est pas basée uniquement sur le fait que ces tissus sont les cibles des médiateurs de l'asthme, mais aussi que ces tissus répondent de façon spécifique à ces médiateurs.

Initialement, la majorité des travaux reliés à l'étude de l'asthme étaient faits chez le cobaye. En effet, Lulich *et al.* (1976) ont utilisé les bandelettes de parenchyme pulmonaire pour étudier la fonction des voies respiratoires périphériques et depuis, dans plusieurs travaux ils ont utilisé les bronches inférieures, les bronches supérieures et la trachée de cobaye. Depuis, quelques années, certaines études ont été entreprises chez la souris. Garssen *et al.* (1990) ont utilisé la trachée de souris comme modèle pour comparer les effets de certains médiateurs pouvant être impliqués dans l'asthme. Jusqu'à présent seulement quelques groupes ont poursuivi des études chez la souris, mais le seul tissu utilisé était la trachée et ces études traitaient de points très spécifiques. Étant donné que l'asthme étant une pathologie des petites voies respiratoires et que jusqu'à présent les seules études chez la souris ont été faites sur la trachée, ceci nous a mené

à faire l'étude des effets de certains médiateurs de l'asthme tels les prostaglandines, les leucotriènes, certains neuro-médiateurs (acétylcholine et sérotonine) et certains peptides bioactifs (vasopressine, VIP et endothélines) à quatre niveaux du système pulmonaire de la souris. soit sur la trachée, les bronches supérieures, les bronches inférieures et le parenchyme pulmonaire et de comparer les effets sur ces quatre tissus. Lorsque l'on compare les effets d'un médiateur sur les différents tissus, il est important de considérer la quantité de musculature lisse présente dans le tissu ainsi que les autres types cellulaires pouvant modifier les réponses d'un tissu à l'autre. En effet, Kapanci *et al.* (1974) ont démontré que le parenchyme de cobaye était un tissu hétérogène contenant plusieurs éléments contractiles dont les muscles lisses des voies respiratoires et ceux du système vasculaire ainsi que des myofibroblastes.

Suite à l'évaluation *in vitro* des effets de plusieurs médiateurs dans les quatre niveaux des voies respiratoires de la souris, nous avons développé un modèle d'asthme allergique chez cette espèce afin d'étudier les mécanismes sous-jacents à cet état pathologique. Dans un premier temps, les souris ont subi une période de sensibilisation à un allergène (l'ovalbumine) afin de produire les anticorps (IgE chez la souris comme chez l'homme), ensuite, celles-ci ont été exposées à cet allergène en aérosol et 24 heures plus tard une injection intraveineuse de cet allergène a été administrée 15 minutes avant la courbe dose-réponse au médiateur de référence, le carbachol. Cette méthode nous a permis d'observer une hyperréactivité pulmonaire (par mesure de la pression d'insufflation pulmonaire ; PIP) au carbachol. Chez d'autres espèces, plusieurs molécules ont été impliquées dans l'état hyperréactif des voies respiratoires suite à une sensibilisation à un allergène. Dans la présente étude, nous avons évalués les rôles de médiateurs tels le thromboxane A₂ et le facteur d'activation plaquettaire (PAF) en utilisant leurs antagonistes.

4.1 RÉACTIVITÉ DES TISSUS PULMONAIRES ISOLÉS DE SOURIS AUX EICOSANOÏDES, AUX NEUROMÉDIATEURS ET AUX PEPTIDES BIOACTIFS

Nos résultats démontrent que les tissus pulmonaires isolés de souris sont des préparations qui répondent de façon spécifique à plusieurs médiateurs. Dans les premières séries d'expériences, la trachée était taillée selon deux méthodes distinctes, soit en anneaux ou en spirale. La trachée de souris taillée en spirale est une préparation très instable donnant des réponses très variables aux agonistes. Par contre, lorsque la trachée est utilisée sous forme d'anneau, la préparation est très fiable et donne des réponses constantes aux agonistes. À partir de ces expériences, les tissus isolés de souris ont été préparés sous forme d'anneaux pour la trachée et les bronches supérieures et inférieures et le parenchyme pulmonaire a été préparé sous forme de bandelettes. La préparation en anneaux permet d'éviter une manipulation excessive et diminue le risque de dommage aux tissus.

Dans notre étude nous avons évalué la réactivité de la trachée, des bronches supérieures, des bronches inférieures et du parenchyme pulmonaire à plusieurs médiateurs pouvant être impliqués dans la réaction asthmatique ou inflammatoire. Les réponses maximales obtenues suite à l'injection d'agonistes contractiles étaient plus marquées au niveau des voies respiratoires supérieures (trachée et bronches supérieures) plutôt que sur les voies respiratoires inférieures (bronches inférieures et parenchyme pulmonaire). En effet, lorsque l'on compare les contractions induites par le carbachol et la sérotonine à des doses se rapprochant de leurs ED_{50} respectifs, on observe que sous l'action du carbachol les tissus exercent les tensions suivantes : la trachée, 0.35 g, les bronches supérieures, 0.34 g, les bronches inférieures, 0.1 g et le parenchyme pulmonaire, 0.012 g et, en réponse à la sérotonine, les tissus exercent les tensions

suivantes : la trachée, 0.23 g , les bronches supérieures, 0.19 g , les bronches inférieures, 0.05 et le parenchyme pulmonaire, 0.011g. Cette caractéristique aussi observée pour d'autres agonistes contractiles tels l'acétylcholine et le composé U-44069 est vraisemblablement due à la quantité de muscles lisses présents dans chacune des préparations. Le parenchyme pulmonaire, un tissu mixte contenant des muscles lisses d'origine vasculaires et bronchiques, était la moins réactive des préparations. De plus, les réponses maximales induites par les différents agonistes contractiles étaient semblables pour la trachée et les bronches supérieures tandis que les réponses maximales induites sur les bronches inférieures étaient beaucoup moins élevées.

Le système nerveux parasympathique qui est important dans la régulation du tonus des voies respiratoires peut être le médiateur le plus important de la bronchoconstriction neuronale (Nadel, 1980). Nos résultats démontrent que les trois neuromédiateurs étudiés, soient le carbachol (agoniste des récepteurs muscariniques), la sérotonine et l'acétylcholine (médiateur parasympathique) sont des agonistes contractiles puissants sur les tissus pulmonaires isolés de souris. Les contractions induites par ces trois neuromédiateurs sont dépendantes de la dose. Généralement, les contractions maximales induites par chacun de ces neuromédiateurs sont équivalentes sur la trachée et les bronches supérieures à l'exception de celles induites par le carbachol qui contracte les bronches supérieures de façon plus importante que la trachée. De plus, au fur et à mesure que l'on progresse vers les voies respiratoires inférieures les contractions maximales observées induites par les trois neuromédiateurs diminuent en force. La sérotonine et l'agoniste cholinergique carbachol contractent les tissus avec une efficacité semblable puisqu'ils ont des ED_{50} semblables pour chacun des tissus respectivement. Au niveau de la puissance de ces deux agonistes à induire des contractions, le carbachol induit des contractions beaucoup plus puissantes que la sérotonine sur chacun des tissus respectivement. Ces résultats sont en accord

avec les observations faites chez le cobaye où le carbachol et la sérotonine induisent des contractions dépendantes de la dose. Chez cette espèce, les contractions induites par le carbachol sont beaucoup plus puissantes que celles induites par la sérotonine (Watts *et al.*, 1992 et 1994). Chez le cobaye les valeurs de EC_{50} pour le carbachol et la sérotonine se situent aux alentours de 1×10^{-7} M tandis que chez le rat ces valeurs se situent à 2×10^{-7} M et 1×10^{-6} M respectivement (Joos *et al.*, 1994). Les valeurs de ED_{50} chez la souris sont en moyenne (sur les quatre tissus) 3×10^{-9} moles pour le carbachol et 2×10^{-9} moles pour la sérotonine. Garssen *et al.* (1990) ont aussi rapporté des contractions de la trachée de souris au carbachol et à la sérotonine avec des valeurs de 3.9×10^{-7} M et 5.2×10^{-3} M respectivement. Ces différences avec nos résultats peuvent être expliquées par l'utilisation de systèmes différents dans l'acquisition des données. Gardiner et Stock (1984) ont démontré de telles différences dans la réactivité des tissus dans deux types de systèmes de bains à tissus où, par exemple, ils ont démontré que le leucotriène D_4 était 304 fois plus puissant que l'histamine dans le système de bains en cascade, mais celui-ci était 2187 fois plus puissant que l'histamine dans le système à bains isolés. Il est à noter que le carbachol et la sérotonine sont des agonistes contractiles beaucoup plus puissants chez la souris (ED_{50} aux alentours de 10^{-9} moles) que chez le rat ou chez le cobaye. Par rapport à ces deux autres neuromédiateurs, l'acétylcholine est moins efficace à contracter les tissus. Les ED_{50} de l'acétylcholine varient sur 2 unités de log tandis que ceux du carbachol et de la sérotonine sont semblables sur tous les tissus étudiés. Par contre, l'acétylcholine induit des contractions maximales beaucoup plus fortes que les deux autres neuromédiateurs. Celle-ci est donc le neuromédiateur étudié le plus puissant à contracter les tissus pulmonaires isolés de souris. L'ordre d'efficacité à contracter ces tissus est donc acétylcholine > carbachol > sérotonine.

Lorsque l'on compare les doses seuils, les préparations sont en moyenne deux fois plus sensibles à l'acétylcholine par rapport au carbachol et à la sérotonine qui ont des doses seuils semblables.

D'autre part, nos résultats démontrent que le composé U-44069 (analogue du thromboxane A_2) induit des contractions marquées des tissus pulmonaires isolés de la souris. Chez le cobaye le U-46619, un autre analogue du thromboxane, a été démontré comme étant un agoniste contractile puissant et hautement efficace sur les bandelettes de parenchyme (Schneider et Drazen 1980 ; Coleman *et al.*, 1985 ; Gardiner *et al.*, 1987), mais quelque peu moins efficace sur la trachée en tonus basal (Schneider et Drazen 1980). Ceci est expliqué par le fait que le tonus basal de la trachée de cobaye est vraisemblablement maintenu par la synthèse et la relâche locale de prostanoïdes tandis que ce phénomène est inexistant (ou très faible) au niveau du parenchyme. Chez la souris, nos résultats démontrent que le tonus basal de la trachée, des bronches supérieures et des bronches inférieures n'est pas maintenu par une production locale de prostanoïdes puisqu'en présence de l'inhibiteur de la cyclooxygénase indométacine (1×10^{-6} M) la tension de base de ces tissus n'est pas modifiée. Étant donné que le tonus basal des tissus pulmonaires isolés de souris n'est pas affecté par l'inhibiteur de la cyclooxygénase, l'administration exogène de l'analogue du thromboxane A_2 U-44069 génère des contractions beaucoup plus puissantes. Sur une base molaire, lorsque l'on compare les doses seuils de cet agoniste contractile par rapport au carbachol, à la sérotonine et à l'acétylcholine, les tissus pulmonaires isolés de souris sont beaucoup plus sensibles au composé U-44069 (environs 1×10^{-11} moles) qu'aux trois autres agonistes (environs 1×10^{-10} moles). L'effet maximal induit par le composé U-44069 est inférieur à celui de la sérotonine au niveau de la trachée (0.26 g et 0.35 g respectivement). Au niveau des bronches supérieures, le carbachol et la sérotonine sont des agonistes plus puissants que le U-44069 (0.65g , 0.40 g et 0.35 g respectivement). Par contre, au

niveau des bronches inférieures, les trois composés contractiles sont équivalents en efficacité puisque le U-44069 induit une contraction maximale de 0.24 g, le carbachol 0.25 g et la sérotonine 0.17 g. Sur les bandelettes de parenchyme, l'ordre de puissance des agonistes contractiles est U-44069 > carbachol = sérotonine avec des valeurs de 0.034 g, 0.023 g et 0.018 g respectivement.

Chez le cobaye, les prostaglandines induisent soit des contractions ou des relaxations de la trachée dépendant du tonus initial du tissu. Sous le tonus basal, $\text{PGD}_2 > \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGI}_2$ (dans cet ordre) étaient des agonistes contractiles (Schneider et Drazen, 1980) et dans certains cas, la PGE_2 contractait la trachée de cobaye (Gardiner et Collier, 1980). Lorsque la trachée de cobaye est à un tonus bas (en présence d'un inhibiteur de la cyclooxygénase) les prostaglandines étaient de puissants agonistes contractiles ayant l'ordre de puissance suivant : $\text{PGE}_2 = \text{U-46619} > \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGI}_2 > \text{PGD}_2$. Sous un tonus élevé, c'est-à-dire en présence d'un spasmogène (souvent le carbachol), la PGE_2 induit des relaxations puissantes de la trachée de cobaye et les prostaglandines I_2 , D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ induisent des relaxations variables, mais faibles (Gardiner, 1989). À l'inverse de la trachée de cobaye, ni l'administration exogène de prostaglandines, ni l'incubation des tissus pulmonaires de souris avec un inhibiteur de la cyclooxygénase n'affectent leur tonus basal. Par contre, nos résultats démontrent que les tissus pulmonaires isolés de souris relaxent en présence de prostaglandines lorsqu'ils sont précontractés avec un spasmogène (carbachol). L'ordre de puissance des prostaglandines était $\text{PGE}_2 > \text{PGF}_{2\alpha} > \text{PGD}_2 \gg \text{PGI}_2$ sur la trachée et les bronches supérieures et $\text{PGF}_{2\alpha} \geq \text{PGE}_2 > \text{PGD}_2 \gg \text{PGI}_2$ sur les bronches inférieures. En comparant les doses seuils sur une base molaire, nos résultats démontrent que les tissus sont beaucoup plus sensibles à la PGE_2 (environs 3×10^{-12} moles) à l'exception des bronches inférieures qui présentent une sensibilité légèrement supérieure à la $\text{PGF}_{2\alpha}$. De plus, de façon

constante la PGD_2 induit des relaxations qui sont toutes aussi efficaces que celles induites par la PGE_2 , mais déplacées d'environ un log vers la droite par rapport à cette dernière. Au niveau de la trachée, par exemple, le ED_{50} pour la PGE_2 est de 1.38×10^{-11} moles tandis que celui de la PGD_2 est de 1.45×10^{-10} moles. Il est connu que les prostaglandines se lient avec une affinité plus ou moins élevée à tous les récepteurs des prostaglandines. La distinction entre les récepteurs des prostaglandines se fait selon le ligand naturel ayant la meilleure affinité pour un récepteur donné. c'est-à-dire, par exemple, les récepteurs de type EP portent ce nom puisque la PGE_2 est le ligand (prostaglandine) ayant la meilleure affinité pour ce type de récepteur. La forme de la courbe de relaxation à la PGD_2 ainsi que sa pente vis-à-vis celles de la PGE_2 pourraient suggérer que la PGD_2 agit sur un récepteur de la PGE_2 avec une affinité diminuée. Cette explication est moins plausible pour la $\text{PGF}_{2\alpha}$ car la courbe obtenue avec celle-ci n'est, en moyenne, que très peu déplacée vers la droite par rapport à celle obtenue avec la PGE_2 et la pente de cette courbe diffère de celle de la PGE_2 . D'autre part, nos résultats démontrent que l'efficacité de la PGE_2 , de la PGD_2 et de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ à relaxer les tissus pulmonaires isolés de souris est équivalente pour chacun des tissus. En effet les prostaglandines induisent en moyenne des relaxations atteignant 90 % de la précontraction à la dose la plus élevée. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus avec la trachée de chat dont le tonus basal n'est pas maintenu par les prostanoïdes. Celle-ci ne contracte pas en présence d'aucune des prostaglandines (Main, 1964 ; Horton et Main, 1965 ; Lulich *et al.*, 1976 ; Apperley *et al.*, 1979). Lorsque la trachée de chat était précontractée avec un non-eicosanoïde, tous les prostanoïdes à l'exception du thromboxane A_2 (ou U-46619) induisaient des relaxations dépendantes de la dose avec l'ordre de puissance suivant : $\text{PGE}_2 > \text{PGI}_2 > \text{PGD}_2 > \text{PGF}_{2\alpha}$ (Gardiner, 1989).

Étant donné que les prostaglandines $F_{2\alpha}$ et D_2 sont des agonistes contractiles puissants chez plusieurs espèces et pouvant être impliquées dans l'asthme, nous avons vérifié si le fait d'obtenir des relaxations des tissus pulmonaires isolés de souris à ces deux prostaglandines n'était pas un phénomène dépendant de la souche de souris utilisée. Nos résultats démontrent que les relaxations obtenues avec les prostaglandines $F_{2\alpha}$ et D_2 sont indépendantes de la souche de souris utilisées. Par contre, les relaxations obtenues avec ces deux prostanoïdes varient en efficacité d'une souche de souris à l'autre. Cette dernière observation est davantage évidente lorsque l'on compare l'effet relaxant de la PGI_2 en utilisant son analogue l'iloprost. Chez la souris de souche CD-1 (souche principale utilisée dans cette étude), l'iloprost induit des relaxations trachéales et bronchiques très faibles seulement à très fortes doses ($> 1 \mu\text{g}$) par rapport aux autres prostaglandines étudiées. Chez la souris CD-1 l'iloprost à $1 \mu\text{g}$ n'induit aucune relaxation. Par contre, chez certaines autres des souches de souris utilisées telles les BALB/c et les C57BL/c6 l'iloprost était beaucoup plus puissant (à $1 \mu\text{g}$, environs 70 % et 45 % sur la trachée respectivement). D'autre part, aux doses utilisées les prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ induisent des relaxations marquées dans toutes les souches de souris étudiées. Ces résultats suggèrent la présence de récepteurs des prostaglandines et du thromboxane A_2 dans les voies respiratoires de la souris. Il est vraisemblable que le nombre de récepteurs présents sur chacun des tissus est responsable des différences de réactivité entre les souches de souris.

Étant donné l'importance des effets contractiles des prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ chez plusieurs espèces incluant l'homme (Gardiner, 1989) et suite aux observations que toutes les prostaglandines utilisées dans cette étude relaxent les tissus pulmonaires isolés de souris et que cet effet n'est pas dépendant de la souche de souris, nous avons tenté d'identifier le mécanisme par lequel ces prostanoïdes induisent leurs effets relaxants. D'une part ceci a été fait en essayant

de vérifier si ces prostaglandines agissent toutes sur un même récepteur ou d'autre part de vérifier si celles-ci n'induisent pas la relâche d'un autre médiateur relaxant. Nous avons étudié l'effet d'un inhibiteur de la cyclooxygénase sur les relaxations induites par les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$. Les prostaglandines sont des substances relâchées de façon spontanée et suite à une stimulation des voies respiratoires du cobaye et de l'homme (Orehek *et al.*, 1973 et 1975 ; Stell *et al.*, 1979 ; Cuthbert et Gardiner, 1983 ; Raeburn *et al.*, 1987). Les expériences ont été effectuées en utilisant un même tissu pour comparer la relaxation induite par une prostaglandine donnée en absence et en présence de l'inhibiteur de la cyclooxygénase (indométacine). Comme il est mentionné plus haut, la PGE_2 induit des relaxations puissantes sur les tissus pulmonaires isolés de souris en absence d'indométacine. En présence de ce composé, les relaxations à la PGE_2 ne semblent pas être significativement modifiées. Par contre, en absence d'indométacine, la prostaglandine D_2 relaxe les tissus pulmonaires de souris et lorsque l'inhibiteur de la cyclooxygénase est présent, les relaxations à la PGD_2 sont complètement abolies. Les mêmes résultats sont observés pour la prostaglandine $F_{2\alpha}$, c'est-à-dire qu'en absence d'indométacine la $PGF_{2\alpha}$ induit de fortes relaxations et en présence de l'inhibiteur les réponses à cette prostaglandine sont complètement supprimées. Ces résultats suggèrent qu'il se serait une production et une relâche locale de PGE_2 (ou un autre prostanoloïde) qui serait responsable des relaxations. Ces résultats ont été confirmés par l'utilisation d'un autre inhibiteur de la cyclooxygénase le naproxène (1×10^{-6} M). Ce composé inhibe donc les relaxations induites par les prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ alors que les relaxations induites par la PGE_2 ne sont pas affectées. L'utilisation d'inhibiteurs de la cyclooxygénase mime l'effet d'enlever la couche de cellules épithéliales des parois des voies respiratoires où ces cellules seraient le site d'origine des prostanoloïdes bronchorelaxants qui, dans certains cas, pourraient diminuer les effets contractiles

de certains agonistes (Hay *et al.*, 1986 et 1987a ; Flavahan *et al.*, 1985). Parmi les autres prostaglandines relaxantes chez la plupart des espèces, il y a la prostacycline (PGI_2) qui pourrait être le médiateur local de la relaxation, mais nos résultats ont démontré que cette prostaglandine était quasi inactive ($> 1 \mu\text{g}$) sur les préparations pulmonaires de la souris CD-1. Ce résultat n'exclue pas la PGI_2 , mais rend moins plausible son implication comme médiateur local dans le phénomène de relaxation.

Nos résultats démontrent donc l'implication possible d'un prostanoïde (possiblement PGE_2) produit et libéré de façon locale suite à l'administration de prostaglandines exogènes (PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$), qui serait responsable de la relaxation observée. Nous avons évalués la possibilité que la prostaglandine E_2 soit le médiateur de la relaxation des tissus pulmonaires isolés de souris en utilisant la polyphlorétine phosphatée (PPP ; un antagoniste de PGE_2 et de $\text{PGF}_{2\alpha}$). Nos résultats démontrent que l'utilisation de la polyphlorétine phosphatée n'a aucun effet sur les relaxations de la trachée et des bronches de souris induites par la PGE_2 exogène. Par contre, cet antagoniste diminue significativement les relaxations induites par la prostaglandine D_2 et celles induites par la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$. En effet, la PPP diminue au delà de la moitié les relaxations induites par la PGD_2 ce qui semblerait confirmer l'implication de la PGE_2 locale comme médiateur de la relaxation observée suite à l'injection de PGD_2 . D'autre part, l'effet de la PPP est beaucoup plus marqué sur les relaxations induites par la $\text{PGF}_{2\alpha}$ puisque l'antagoniste utilisé est aussi un antagoniste des récepteurs de $\text{PGF}_{2\alpha}$. De plus, puisqu'il s'agit d'un antagoniste peu sélectif (Park et Dyer, 1973) de la PGE_2 (faible) et aussi un antagoniste de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, nous ne pouvons pas conclure de façon absolue que la PGE_2 est le médiateur de la relaxation observée suite à l'injection des deux autres prostaglandines.

Afin d'étudier davantage l'implication de la PGE_2 dans le phénomène de relaxations induites par PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$, nous avons utilisés un antagoniste d'un des sous-types de récepteurs de la prostaglandine E_2 . Il existe quatre sous-types de récepteurs pour la PGE_2 soit les récepteurs EP_1 , EP_2 , EP_3 et EP_4 . Les récepteurs de type EP_1 et EP_3 sont associés à l'augmentation de calcium intracellulaire (EP_3 , dans certains cas augmente l'AMPc) et les récepteurs de type EP_2 et EP_4 sont associés à l'augmentation de l'AMPc intracellulaire. Ce sont donc ces deux derniers qui seraient vraisemblablement impliqués dans la médiation de la réponse relaxante à la prostaglandine E_2 . Étant donné qu'actuellement il n'existe aucun antagoniste des récepteurs EP_2 , mais seulement un agoniste spécifique (le butaprost), nous avons utilisé un antagoniste des récepteurs EP_4 (AH 23848B) pour évaluer son effet sur les relaxations aux prostaglandines D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$. Cet antagoniste est faible ($\text{pA}_2 = -5.4$), mais sélectif parmi les récepteurs de type EP. Nos résultats démontrent qu'à la dose de $30 \mu\text{M}$ l'antagoniste n'a aucun effet sur les relaxations induites par PGE_2 , PGD_2 et $\text{PGF}_{2\alpha}$ sur la trachée et les bronches de souris. Par contre, à la dose de $100 \mu\text{M}$ le AH 23848B supprime complètement les relaxations induites par la prostaglandine D_2 et celles induites par la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$. Par contre, les relaxations induites par la prostaglandine E_2 ne sont pas affectées par la présence de l'antagoniste. Ceci peut être expliqué par le fait que l'antagoniste EP_4 ayant une faible affinité pourrait être facilement déplacé par la PGE_2 exogène qui possède une très forte affinité pour ses récepteurs. L'ensemble des résultats suggère que les relaxations induites par les prostaglandines D_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ sont médiées par la production locale de prostaglandine E_2 via les récepteurs EP_4 sur les muscles lisses des préparations pulmonaires de souris, mais n'excluent pas la possibilité qu'un autre médiateur puisse être impliqué.

Dans le but de vérifier si, l'oxyde nitrique est impliqué dans les relaxations observées suite à l'injection de PGD_2 et de $\text{PGF}_{2\alpha}$, nous avons évalué l'effet d'un inhibiteur de la synthèse de l'oxyde nitrique (NOS). Nos résultats démontrent qu'en présence de L-NAME (inhibiteur de la NOS), les relaxations à la PGE_2 , à la PGD_2 et à la $\text{PGF}_{2\alpha}$ des tissus pulmonaires isolés de la souris ne sont pas modifiées. Il n'y a donc pas de contribution de l'oxyde nitrique dans le phénomène de relaxation aux trois prostaglandines.

Nos résultats démontrent que certains peptides bioactifs tels le polypeptide vasoactif intestinal (VIP), la vasopressine et les endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3) sont actifs sur les tissus pulmonaires isolés de souris. Parmi ceux-ci, seul le VIP relaxe la trachée, les bronches supérieures et les bronches inférieures de la souris. Par rapport aux prostaglandines, ce peptide a une puissance semblable à celle de la PGD_2 puisque sa dose effective moyenne (ED_{50}) se situe à environ 1×10^{-10} moles pour les trois tissus. Le VIP est donc moins puissant que la PGE_2 et la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Par contre, son efficacité à relaxer ces tissus est équivalente à celle des prostaglandines.

La vasopressine, qui est un puissant vasoconstricteur, était un bronchoconstricteur sur les tissus pulmonaires de la souris. Parmi les agonistes contractiles utilisés dans cette étude, la vasopressine est la plus puissante à contracter la trachée et les bronches supérieures. L'ordre de puissance des agonistes contractiles sur ces tissus est donc vasopressine > carbachol > sérotonine > acétylcholine. De plus, la vasopressine est l'un des plus efficaces à contracter la trachée et les bronches supérieures atteignant jusqu'à 0.85 g de force de contraction. Par contre, les bronches inférieures ne répondent que de façon très faible à ce peptide.

Les endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3) qui ont été étudiées de façon extensive chez le cobaye, sont reconnues comme étant des agonistes contractiles très puissants. Nos résultats démontrent que dans le système de superfusion en cascade les trois endothélines induisent de

fortes contractions de la trachée et des bronches supérieures de la souris, mais ces contractions présentent une tachyphylaxie marquée. Les effets des endothélines ont aussi été évalués dans le système à bains isolés, mais des courbes concentration-réponse étaient impossibles à obtenir. De plus, nos résultats démontrent que la trachée et les bronches supérieures de la souris contractent en présence de la sarafotoxine s6c, un agoniste sélectif ET_B. Ces contractions présentaient des caractéristiques semblables à celles induites par les endothélines. Ceci suggère la présence de récepteurs ET_B sur la trachée et les bronches supérieures de la souris. De plus, ceci suggère que les contractions aux endothélines sont probablement médiées par les récepteurs ET_B chez les tissus pulmonaires isolés de souris.

4.2 MODÈLE D'HYPERREACTIVITÉ PULMONAIRE *IN VIVO* CHEZ LA SOURIS

Parmi plusieurs modèles d'hyperréactivité pulmonaire *in vivo*, la souris en est un particulièrement intéressant. Lorsque l'on étudie la réponse allergique au niveau des poumons, la classe principale d'anticorps produite dans l'inflammation pulmonaire chez la souris est l'immunoglobuline de type E (IgE) (Nakajima *et al.*, 1992 ; Coffman *et al.*, 1989). Il a été démontré que chez les souris sensibilisées à l'ovalbumine, l'exposition à l'allergène en aérosol induit une inflammation pulmonaire avec prédominance d'éosinophiles (Kung *et al.*, 1994). De plus, il a été montré que cette réponse éosinophilique est spécifique à l'exposition à l'allergène (ovalbumine), car l'exposition à l'albumine sérique bovine n'a aucun effet initiateur d'inflammation pulmonaire chez les souris sensibilisées à l'ovalbumine.

Nos résultats démontrent que la sensibilisation des souris BALB/c à l'ovalbumine et leur exposition subséquente à l'allergène est suffisante pour induire une infiltration éosinophilique au

niveau des poumons. Par contre, les deux expositions à l'ovalbumine en aérosol suivant la période de sensibilisation de douze jours sont insuffisantes pour induire une hyperréactivité pulmonaire significative chez la souris BALB/c *in vivo*. Une troisième exposition à l'ovalbumine (1 mg Kg⁻¹ i.v.) des souris sensibilisées est nécessaire immédiatement avant la courbe dose-réponse à l'agoniste bronchoconstricteur de référence (carbachol). Cette troisième exposition intraveineuse à l'allergène induit une hausse de la pression artérielle moyenne suggérant une relâche d'un ou de plusieurs médiateurs qui peuvent être impliqués dans l'induction de l'hyperréactivité pulmonaire. De plus, cette augmentation de la pression artérielle moyenne suivant l'injection i.v. d'ovalbumine sert de témoin positif de la sensibilisation efficace des souris, car l'ovalbumine injectée de façon intraveineuse n'a aucun effet sur la pression artérielle moyenne des souris témoins (non-sensibilisées). La nécessité de la troisième exposition (intraveineuse) à l'allergène est vraisemblablement due au fait que les deux expositions initiales en aérosol permettent l'accumulation des cellules inflammatoires (éosinophiles en majeure partie) au niveau pulmonaire sans toutefois causer leur activation, tandis que la troisième exposition systémique à l'allergène est probablement responsable de l'activation de ces cellules et de la libération à partir de celles-ci de médiateurs pro-inflammatoires pouvant être impliqués dans l'induction de l'hyperréactivité pulmonaire. Nos résultats démontrent donc clairement que la méthode de sensibilisation ainsi que l'exposition des souris sensibilisées à l'allergène (ovalbumine) induisent une hyperréactivité bronchique marquée chez ces souris tel que témoigné par les courbes dose-réponse des souris témoins (non-sensibilisées) et les souris sensibilisées au bronchoconstricteur de référence (carbachol).

L'utilisation de la méthode de mesure de la fonction respiratoire de Konzett et Rossler (1940) permet l'évaluation directe de la bronchoconstriction suivant l'injection de l'agoniste

bronchoconstricteur. Dans les expériences préliminaires, la sérotonine a été évaluée comme bronchoconstricteur de référence pour les expériences *in vivo* chez la souris. Les caractéristiques de ce composé, soit son effet presseur et son effet bronchoconstricteur en faisaient un agoniste idéal pour produire les courbes dose-réponse. Par contre, la sérotonine qui est un agoniste efficace dans les expériences chez le rat (spicer *et al.*, 1990) n'a pu être retenu comme bronchoconstricteur principal dans cette étude puisque celle-ci présente une tachyphylaxie marquée chez la souris. Le carbachol, analogue stable de l'acétylcholine, a été retenu comme bronchoconstricteur de référence car les courbes dose-réponse à cet agoniste étaient stables et reproductibles et jusqu'à sept points de courbe pouvaient être administrés. Par contre, le carbachol injecté de façon intraveineuse induit une chute de la pression artérielle moyenne.

Afin de vérifier si le thromboxane A_2 (composé associé à l'induction de l'hyperréactivité bronchique chez d'autres espèces) est impliqué dans l'hyperréactivité bronchique induite par l'allergène chez la souris sensibilisée, nous avons utilisé l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 (1 mg Kg⁻¹ i.v.) avant l'injection systémique d'ovalbumine. Nos résultats démontrent qu'en présence de l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 l'hyperréactivité bronchique au carbachol est bloquée ($P < 0.01$) aux points de courbe 1 µg Kg⁻¹ à 50 µg Kg⁻¹ (carbachol). Par contre, aux plus fortes doses de carbachol, l'antagoniste du thromboxane A_2 ne semble pas avoir d'effet sur l'hyperréactivité. Ceci pourrait être expliqué par le métabolisme ou l'élimination du composé. Ces résultats suggèrent l'implication du thromboxane A_2 , du moins en partie, dans l'hyperréactivité induite par l'ovalbumine chez la souris allergique. De plus, il existe une corrélation entre les résultats obtenus avec le L-654,664 au niveau des doses plus faibles de la courbe dose-réponse au carbachol et l'effet d'une injection du composé U-44069 avant la courbe dose-réponse chez la

souris naïve. Nos résultats démontrent que le composé U-44069 (analogue du thromboxane A₂) injecté de façon intraveineuse chez la souris naïve avant la courbe dose-réponse au carbachol induit une hyperréactivité pulmonaire marquée *in vivo*. Cette hyperréactivité est observée aux doses de 1 µg Kg⁻¹ à 50 µg Kg⁻¹ de la courbe dose-réponse au carbachol. De plus, cette hyperréactivité induite par le composé U-44069 est dépendante de la dose. Il a été suggéré que le thromboxane A₂ pourrait agir présynaptiquement aux terminaisons nerveuses cholinergiques. Cette activité positive du thromboxane A₂ sur les terminaisons nerveuses cholinergiques pourrait augmenter le potentiel des muscles lisses et ainsi une dose moins élevée de carbachol i.v. serait nécessaire pour induire la même réponse chez la souris naïve. Aux doses plus élevées de la courbe dose-réponse au carbachol, la faible augmentation du potentiel des muscles lisses par le thromboxane A₂ serait non significative par rapport à la dose intraveineuse de carbachol et ainsi n'aurait que peu ou pas d'effet. Nos résultats sont en accord avec la littérature puisqu'il a été prouvé que le thromboxane A₂ est un médiateur important impliqué dans l'hyperréactivité pulmonaire chez plusieurs modèles (Nagai *et al.*, 1993 ; Arimura *et al.*, 1993). Il a été démontré dans un modèle d'hyperréactivité allergique chez le cobaye qu'un antagoniste du thromboxane A₂ inhibe clairement la bronchoconstriction induite par l'allergène ainsi que l'hyperréactivité provoquée par cet allergène (Arimura *et al.*, 1993). De plus, dans un autre modèle d'hyperréactivité pulmonaire chez le cobaye induite par l'inhalation de LPS, il a été démontré que le prétraitement avec un antagoniste du thromboxane A₂ avant l'inhalation de LPS réduit de façon marquée l'hyperréactivité pulmonaire à l'acétylcholine intraveineuse (Arimura *et al.*, 1993). Plusieurs autres ont aussi rapporté le rôle important du thromboxane A₂ dans l'hyperréactivité pulmonaire (Aizawa *et al.*, 1985 ; Kobayashi *et al.*, 1985 ; O'Byrne *et al.*, 1985 ; Chung *et al.*, 1986a ; Chung *et al.*, 1986b ; Abraham *et al.*, 1988).

À l'aide du composé CV 3988 (antagoniste du PAF), nous avons vérifié l'implication du facteur d'activation plaquettaire dans notre modèle d'hyperréactivité pulmonaire chez la souris. En effet, selon nos résultats une injection intraveineuse de CV 3988 avant l'injection systémique d'ovalbumine abolit l'hyperréactivité pulmonaire observée chez les souris sensibilisées. L'utilisation de l'antagoniste CV 3988 réduit l'hyperréactivité induite par l'antigène sur la totalité (1 à 400 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) de la courbe dose-réponse au carbachol ($P < 0.01$, pour la plupart des points), réduisant ainsi les valeurs obtenues à celles obtenues chez les souris témoins. Ces résultats suggèrent que le PAF pourrait être le médiateur principal impliqué dans le développement de l'hyperréactivité pulmonaire induite par l'antigène chez la souris sensibilisée. Ces résultats sont en accord avec Longphre *et al.* (1996) qui ont montré que le PAF pouvait induire une hyperréactivité pulmonaire chez la souris. De plus, Martin *et al.* (1993) ont présenté des évidences montrant que les mastocytes sont capables d'induire une hyperréactivité pulmonaire à la stimulation cholinergique et que celle-ci est causée par la dégranulation des mastocytes médiée par les IgE. D'autre part, les produits des mastocytes tels le facteur α nécrosant tumoral (TNF α) et la tryptase mastocytaire ont été démontrés comme étant des médiateurs causant l'hyperréactivité bronchique (Kips *et al.*, 1993 ; Sekizawa *et al.*, 1989). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres modèles d'hyperréactivité pulmonaire *in vivo*, où le facteur d'activation plaquettaire a été démontré comme étant un important médiateur dans l'induction de l'hyperréactivité pulmonaire. Chez le cobaye par exemple, Morooka *et al.* (1992) ont démontré que des injections de PAF peuvent induire une hyperréactivité pulmonaire et que des injections d'un antagoniste du PAF inhibent cette hyperréactivité. De plus, ils ont démontré que l'antagoniste du PAF inhibe aussi l'hyperréactivité pulmonaire induite par l'exposition à l'allergène chez le cobaye sensibilisé.

Havill *et al.* (1990) ont également démontré que les antagonistes du PAF inhibent le développement de l'hyperréactivité pulmonaire chez le cobaye.

Par ailleurs, nos résultats suggèrent que l'hyperréactivité pulmonaire au carbachol induite par l'antigène chez la souris sensibilisée devient létale à partir de la dose de $25 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de la courbe dose-réponse au carbachol. À partir de cette dose, la bronchoconstriction chez les souris sensibilisées peut être tellement sévère que les souris ne se rétablissent pas. En effet, à la dose de $25 \mu\text{g Kg}^{-1}$ de carbachol le taux de survie est d'environ 96 % et diminue à toutes les doses subséquentes pour atteindre 29 % à la dose finale ($400 \mu\text{g Kg}^{-1}$). Les souris sensibilisées et exposées à l'ovalbumine ayant reçu l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 (1 mg Kg^{-1} , i.v.) avaient un taux de survie légèrement amélioré aux doses intermédiaires de la courbe dose-réponse au carbachol. De plus, les souris sensibilisées et exposées à l'allergène ayant reçu l'antagoniste du PAF CV 3988 étaient protégées de la mort induite par l'hyperréactivité pulmonaire. Le traitement des souris sensibilisées avec l'antagoniste du PAF permettait leur survie de la courbe dose-réponse au carbachol complète (100 % de survie).

La méthode de mesure de la fonction respiratoire de Konzett-Rossler nous a permis d'évaluer de façon qualitative les effets de certains médiateurs tels les prostaglandines E_2 , D_2 , $F_{2\alpha}$ et le thromboxane A_2 *in vivo*. Nous avons observé que les prostaglandines E_2 et D_2 relaxent les voies respiratoires de souris puisqu'il y a diminution du PIP suivant leur injection intraveineuse au niveau de la veine jugulaire. Par contre, la prostaglandine $F_{2\alpha}$ induit une bronchoconstriction *in vivo* tel que témoigné par des augmentations du PIP par rapport à la ligne de base. Cette observation est intéressante puisque nous avons démontré que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ induisait de puissantes relaxations de la trachée, des bronches supérieures et des bronches inférieures *in vitro*. Le composé U-44069 (analogue du thromboxane A_2) induit de puissantes bronchoconstrictions. De

façon intéressante, si la $\text{PGF}_{2\alpha}$ est injectée subséquemment à une injection de U-44069, une relaxation des voies respiratoires est observée puisque le PIP diminue. Ceci pourrait être expliqué par le fait que suite à l'injection du composé U-44069 les voies respiratoires sont dans un état d'excitation mimant une précontraction des tissus avec un spasmogène et ainsi la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$ montrerait ses propriétés relaxantes. Enfin, nous avons observés que l'endothéline-1 induit une bronchoconstriction des voies respiratoires de la souris puisque son injection induit une augmentation du PIP par rapport à la ligne de base.

En perspectives, il serait intéressant d'évaluer le rôle de l'endothéline dans le développement de l'hyperréactivité pulmonaire chez la souris sensibilisée suivant son exposition à l'antigène, puisque certains de nos résultats préliminaires suggèrent un rôle très important de ce peptide bioactif dans ce phénomène. Le prétraitement des souris sensibilisées avec l'antagoniste des récepteurs ET_A de l'endothéline, le BQ 123, administré de façon intraveineuse ou par instillation intra-nasale avant l'exposition des souris à l'antigène permet de bloquer significativement l'hyperréactivité pulmonaire. À l'aide d'antagonistes des récepteurs de l'endothéline et d'inhibiteurs de son enzyme de conversion, une étude des mécanismes sous-jacents aux actions de ce peptide serait importante.

CONCLUSIONS

L'étude des effets de plusieurs médiateurs au niveau des tissus pulmonaires isolés *in vitro* et de l'hyperréactivité pulmonaire *in vivo* induite par l'allergène chez la souris sensibilisée à l'ovalbumine nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

1) La trachée, les bronches supérieures, les bronches inférieures et le parenchyme pulmonaire de souris sont des préparations qui répondent de façon spécifique à des neuromédiateurs tels l'acétylcholine, le carbachol et la sérotonine, à des prostanoïdes tels le thromboxane A_2 (U-44069), la PGE_2 , la PGD_2 , la $PGF_{2\alpha}$ et dans certains cas la PGI_2 (iloprost), à des peptides bioactifs tels la vasopressine, le polypeptide vasoactif intestinal et les endothélines (ET-1, ET-2 et ET-3).

2) En général, les réponses aux différents médiateurs tendent à diminuer lorsque l'on descend l'arbre trachéo-bronchique, c'est-à-dire que dans l'ordre, les tissus répondent de la façon suivante : trachée \geq bronches supérieures > bronches inférieures > parenchyme pulmonaire.

3) Les neuromédiateurs (carbachol, acétylcholine et sérotonine) induisent des contractions dépendantes de la dose des tissus pulmonaires isolés de souris. L'ordre de puissance des agonistes est carbachol > sérotonine > acétylcholine et l'ordre d'efficacité des ces agonistes est acétylcholine > carbachol > sérotonine.

4) Parmi les prostanoïdes, seul le thromboxane A_2 (U-44069) induit des contractions dépendantes de la dose des tissus pulmonaires de souris. Par rapport aux neuromédiateurs, le thromboxane A_2 est un agoniste plus puissant, mais a une efficacité égale ou moindre à celle de la sérotonine (le moins efficace des trois neuromédiateurs).

5) Les prostaglandines E_2 , D_2 et $F_{2\alpha}$ induisent des relaxations dépendantes de la dose de la trachée, des bronches supérieures et des bronches inférieures précontractées au carbachol. Ces prostaglandines induisent des relaxations atteignant jusqu'à 97 % de la précontraction au niveau des différents tissus. L'ordre de puissance de ces différentes prostaglandines est $PGE_2 > PGF_{2\alpha} > PGD_2$ au niveau de la trachée et des bronches supérieures et $PGF_{2\alpha} \geq PGE_2 > PGD_2$ au niveau des bronches inférieures.

6) Les prostaglandines induisent des relaxations de la trachée et des bronches de plusieurs souches de souris notamment les souches CD-1, BALB/c, C57BL/c6 et C3H. L'effet relaxant des prostaglandines chez la souris n'est donc pas dépendant de la souche de souris. Par contre, il existe des variations dans l'efficacité à relaxer les tissus pulmonaires isolés parmi les différentes souches de souris.

7) Le tonus basal des tissus pulmonaires de souris ne semble pas être maintenu par une relâche endogène constitutive de prostanoides, puisque l'injection exogène de prostaglandines n'affecte pas la ligne de base. De plus, l'incubation des tissus avec un inhibiteur de la cyclooxygénase, l'indométacine, n'altère pas la ligne de base.

8) Les relaxations induites par les prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ semblent être médiées par la relâche d'un prostanoides endogène puisque ces relaxations sont abolies en présence d'inhibiteurs de la cyclooxygénase (indométacine et naproxène). De plus, l'effet inhibiteur de la polyphosphatée (antagoniste PGE_2 et $PGF_{2\alpha}$) sur ces relaxations suggère que le prostanoides impliqué serait la PGE_2 , mais ne permet pas de le confirmer. Cependant, l'effet de l'antagoniste EP_4 AH 23848B qui semble réduire ou supprimer les relaxations induites par la PGD_2 et la $PGF_{2\alpha}$, suggère que le prostanoides impliqué (possiblement PGE_2) agirait via les récepteurs EP_4 pour induire les relaxations.

9) Parmi les peptides bioactifs, seul le polypeptide vasoactif intestinal (VIP) relaxe les tissus pulmonaires isolés de souris. Ces relaxations sont dépendantes de la dose et atteignent jusqu'à 91 % de la précontraction au carbachol. Le VIP a une puissance environ équivalente à celle de la PGD_2 . La vasopressine induit des contractions dépendantes de la dose des tissus pulmonaires isolés de souris. Par rapport aux autres agonistes contractiles dans cette étude, la vasopressine est la plus puissante et l'une des plus efficaces à contracter les tissus pulmonaires isolés de la souris. Les trois endothélines, ET-1, ET-2 et ET-3, contractent la trachée et les bronches de souris, mais ces contractions sont très tachyphylactiques. De plus, la sarafotoxine $s6c$ contracte ces mêmes tissus de façon tachyphylactique comme les endothélines. Ces contractions à la sarafotoxine $s6c$ suggèrent la présence de récepteurs ET_B sur les voies respiratoires de souris.

10) Les leucotriènes sont à peu près inactifs aux doses utilisées au niveau des tissus pulmonaires isolés de souris. Seul le leucotriène C_4 induit de faibles contractions au niveau de la trachée et des bronches supérieures. Ces contractions sont tachyphylactiques.

11) Une hyperréactivité pulmonaire *in vivo* induite par l'allergène est obtenue suite à une période de sensibilisation des souris à l'ovalbumine de douze jours et une exposition de ces souris à l'ovalbumine en aérosol et intraveineuse. L'hyperréactivité pulmonaire est évaluée 24 heures suivant l'exposition des souris à l'ovalbumine en aérosol et 15 minutes après l'injection intraveineuse d'ovalbumine.

12) Le thromboxane A_2 est impliqué, au moins en partie, dans l'hyperréactivité pulmonaire chez la souris sensibilisée, car l'antagoniste du thromboxane A_2 L-654,664 inhibe l'hyperréactivité pulmonaire sur la première partie de la courbe dose-réponse au bronchoconstricteur de référence (carbachol). De plus, le traitement des souris sensibilisées avec

cet antagoniste les protège de façon partielle de la mort induite par la bronchoconstriction sévère observée chez les souris sans traitement.

13) Le facteur d'activation plaquettaire a un rôle majeur dans l'hyperréactivité induite chez la souris sensibilisée, puisque le traitement de ces souris avec l'antagoniste CV 3988 abolit complètement l'hyperréactivité pulmonaire induite par l'antigène. De plus, non seulement le traitement des souris avec cet antagoniste abolit l'hyperréactivité pulmonaire, mais protège complètement les souris contre la bronchoconstriction fatale observée chez les souris n'ayant reçu aucun traitement. D'autre part, cette protection s'étend sur la courbe dose-réponse complète au bronchoconstricteur de référence (carbachol). Le traitement avec l'antagoniste du PAF permet une survie de 100 % des souris sensibilisées.

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord adresser des remerciements au Dr Pierre Sirois qui a dirigé mes travaux de recherche, pour ses conseils, ses encouragements et la confiance qu'il m'a témoignée en me laissant une autonomie dans la conduite de mes recherches.

La réalisation de mon travail n'aurait pas été possible sans la précieuse collaboration et le support technique de madame Solange Cloutier à qui je dois ma gratitude et mes remerciements.

Je tiens particulièrement à remercier les Drs Domenico Regoli et Raymond Bégin qui ont si aimablement accepté de consacrer leur temps à lire et à commenter mon mémoire de maîtrise.

Je remercie également les membres du Département de pharmacologie, les professeurs, les étudiants et tous ceux et celles qui ont contribué à la réussite de mon travail.

Finalement, je voudrais exprimer ma gratitude à mes parents et à mon frère Philip, pour leurs encouragements et leur appui.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAHAM, W.M., STEVENSON, J.S. et GARRIDO, R. (1988) A leukotriene and thromboxane inhibitor (Sch 37224) blocks antigen-induced immediate and late responses and airway hyperresponsiveness in allergic sheep. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **427** : 1004-1011.
- AIZAWA, H., CHUNG, K.F., LEIKAUF, G.D., UEKI, I.F., BETHEL, R.A., O'BYRNE, P.M., HIROSE, T. et NADEL, J.A. (1985) Significance of thromboxane generation in ozone-induced airway hyperresponsiveness in dogs. *J. Appl. Physiol.* **59** : 1918-1923.
- ANGGARD, E. et SAMUELSSON, B. (1965) Biosynthesis of prostaglandins from arachidonic acid in guinea pig lung. *J. Biol. Chem.* **240** : 3518-3523.
- APPERLEY, G.H., COLEMAN, R. A., KENNEDY, I. et LEVY, G. P. (1979) The cat isolated trachea a useful preparation for the study of the smooth muscle relaxant actions of prostaglandins. *Br. J. Pharmac.* **67** : 412-413P.
- ARIMURA, A., ASANUMA, F., YAGI, H., KUROSAWA, A. et HARADA, M. (1993) Involvement of Thromboxane A₂ in bronchial hyperresponsiveness but not lung inflammation induced by bacterial lipopolysaccharide in guinea pigs. *Eur. J. Pharmacol.* **231** : 13-21.
- ARMSTRONG, J.M., BOURA, A.L.A., HAMBERG, M. et SAMUELSSON, B. (1976) A comparison of the vasodepressor effects of the tricyclic endoperoxides PGG₂ and PGH₂

with those of PGD₂ and PGE₂ in hypertensive and normotensive rats. Eur. J. Pharmacol. **39** : 251-258.

ARMSTRONG, J.M., LATTINER, N., MONCADA, S. et VANE, J.R. (1978) Comparison of the vasodepressor effects of prostacyclin and 6-oxo-prostaglandin F_{1α} with those of prostaglandin E₂ in rats and rabbits. Br. J. Pharmacol. **62** : 125-130.

BACH, M.K. et BRASHLER, J.R. (1974) In vivo and in vitro production of a slow reacting substance in the rat upon treatment with calcium ionophores. J. Immunol. **113** : 2040-2044.

BACH, M.K., BRASHLER, J.R. et GORMAN, R.R. (1977) On the structure of slow reacting substance of anaphylaxis: evidence of biosynthesis from arachidonic acid. Prostaglandins **14** : 21-38.

BACH, M.K., BRASHLER, J.R., BROOKS, C.D. et NEERKEN, A.J. (1979) Slow reacting substances: comparison of some properties of human lung SRS-A and two distinct fractions from ionophore-induced rat mononuclear cell SRS. J. Immunol. **122** : 160-165.

BARNES, P.J. (1986) Asthma as an axon reflex. Lancet **1** : 242-245.

BERGSTROM, S. et SJOVALL, J. (1957) The isolation of prostaglandin. Acta Chem. Scand. **11** : 1086-1094.

- BERGSTROM, S. et SJOVALL, J. (1960a) The isolation of prostaglandin F from sheep prostate glands. *Acta Chem Scand.* **14** : 1693-1700.
- BERGSTROM, S. et SJOVALL, J. (1960b) Isolation of prostaglandin E from sheep prostate glands. *Acta Chem Scand.* **14** : 1701-1705.
- BERGSTROM, S., RYHAGE, R., SAMUELSSON, B. et SJOVALL, J. (1962a) The structure of prostaglandin E, F₁ and F_{2α}. *Acta Chem. Scand.* **16** : 501-502.
- BERGSTROM, S., DRESSLER, L., KRABISCH, L., RYHAGE, R. et SJOVALL, J. (1962b) The isolation and structure of a smooth muscle stimulating factor in normal sheep and pig lungs. *Ark. Kemi* **20** : 63-66.
- BERGSTROM, S.H., DANIELSSON, H. et SAMULESSON, B. (1964) The enzymatic formation of prostaglandin E₂ from arachidonic acid. *Biochim. Biophys. Acta* **90** : 207-210.
- BERGSTROM, K. et HAMMARSTROM, S. (1981) Metabolism of leukotriene D₄ by porcine kidney. *J. Biol. Chem.* **256** : 9579-9782.
- BJORK, J., BEDQVIST, P. et ARFORS, K.E. (1982) Increase in vascular permeability induced by leukotriene B₄ and the role of polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation* **6** : 189-200.

- BLACK, J. L., ARMOUR, C. L., VINCENC, K. S. et JOHNSON, P. R. A. (1986) A comparison of the contractile activity of PGD₂ and PGF_{2α} on human isolated bronchus. *Prostaglandins* **32** : 25-31.
- BLACKWELL, G.J. et FLOWER, R.J. (1983) Inhibition of phospholipase. *Br. Med. Bull.* **39** :260-264.
- BLOCH, K.D., EDDY, R.L., SHOWS, T.B. et QUERTERMOUS, T. (1989a) cDNA cloning and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin 3. *J. Biol. Chem.* **264** : 18156-18161.
- BLOCH, K.D., FRIEDRICH, S.P., LEE, M.E., EDDY, R.L., SHOWS, T.B. et QUERTERMOUS, T. (1989b) Strucural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin. *J. Biol. Chem.* **264** : 10851- 10857.
- BORGEAT, P. Biochemistry of leukotrienes. Dans: P.J. Piper (ed.) *The leukotrienes: their biological significance*. Raven Press, New York, 1986, p. 1-14.
- BORGEAT, P., HAMBERG, M. et SAMUELSSON, B. (1976) Transformation of arachidonic acid and homo-(-linoleic acid by rabbit polymorphonuclear leukocytes. Monohydroxy acids from novel lipxygenase. *J. Biol. Chem.* **251** : 7816-7820.

- BORGEAT, P. et SAMUELSSON, B. (1979a) Arachidonic acid metabolism in polymorphonuclear leukocytes: effect of ionophore A23187. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **76** : 2148-2152.
- BORGEAT, P. et SAMUELSSON, B. (1979b) Arachidonic acid metabolism in polymorphonuclear leukocytes: unstable intermediate in formation of dihydroxy acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* **76** : 3213-3217.
- BORGEAT, P. et SAMUELSSON, B. (1979c) Metabolism of arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes: structural analysis of novel hydroxylated compounds. *J. Biol. Chem.* **254** : 7865-7869.
- BORGEAT, P. et SAMUELSSON, B. (1979d) Transformation of arachidonic acid by rabbit polymorphonuclear leukocytes. Formation of a novel dihydroxyeicosatetraenoic acid. *J. Biol. Chem.* **254** : 2643-2646.
- BRAY, M.A., FORD-HUTCHINSON, A.W. et SMITH, M.J.H. Leukotriene B₄: biosynthesis and biological activities. Dans: P.J. Piper (ed.). *SRS-A and leukotrienes*. Wiley and Sons, Chichester, England, 1981, p. 253-270.
- BROCKLEHURST, W.E. (1953) Occurrence of an unidentified substance during anaphylactic shock in cavy lung. *J. Physiol.* **120** : 16.

BROCKLEHURST, W.E. (1962) Slow reacting substance and related compounds. *Progr. Allergy* **6** : 540-560.

BRODIE, B. B. et SHORE P. A. (1957) A concept for a role for serotonin and norepinephrin as chemical mediators in the brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **66** : 631-642.

BRUNING, T.A., HENDRIKS, M.G.C., CHANG, P.C., KUYPERS, E.A.P. et VAN ZWIETEN, P.A. (1994) In vivo characterization of vasodilating muscarinic-receptor subtypes in humans. *Circ. Res.* **74** : 912-191.

CAPRON, M., SPIEGELBERG, H.L., PRIN, L., BENNICHI, H., BUTTERWORTH, A.E., PIERCE, R.J., OUAISSIS, M.A. et CAPRON, A. (1984) Role of IgE receptors in effector function of human eosinophils. *J. Immunol.* **132** : 462-468.

CHAGNON, M., GENTILE, J., GLADU, M. et SIROIS, P. (1985) The mechanism of action of leukotrienes A₄, C₄ and D₄ on human lung parenchyma in vitro. *Lung* **163** : 55-62.

CHUNG, K.F., AIZAWA, H., BECKER, A.B., FRICK, O., GOLD, W.M. et NADEL, J.A. (1986a) Inhibition of antigen-induced airway hyperresponsiveness by a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) in allergic dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.* **134** : 258-261.

- CHUNG, K.F., AIZAWA, H., LEIKAUF, G.D., UEKI, I.F., EVANS, T.W. et NADEL, J.A. (1986b) Airway hyperresponsiveness induced by platelet-activating factor: Role of thromboxane generation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **236** : 580-584.
- CHUNG, K.F., ROGERS, D.F., BARNES, P.J. et EVANS, TW. (1990) The role of increased airway microvascular permeability and plasma exudation in asthma. *European Respiratory Journal.* **3**(3) : 329-37.
- COFFMAN, R.L., SEIMOUR, B.W.P., HUDAK, S., JACKSON, J. et RENNICK, D. (1989) Antibody to interleukin-5 inhibits helminth-induced eosinophilia in mice. *Science* **245** : 308-310.
- COLEMAN, R. A. et KENNEDY, I. (1980) Contractile and relaxant actions of prostaglandins on guinea pig isolated trachea. *Br J. Pharmac.* **68** : 533-539.
- COLEMAN, R. A. et KENNEDY, I. (1985) Characterisation of the prostanoid receptors mediating contraction of guinea pig isolated trachea. *Prostaglandins* **29** : 363-375.
- CUTHBERT, N.J. et GARDINER, P.J. (1983) Endogenous generation of cyclooxygenase products by human isolated lung tissue. *Br. J. Pharmacol.* **80** : 496.
- DAHLEN, S.E., BJORK, J., HEDQVIST, P., ARFORD, K.-E., HAMMARSTROM, S., LINDGREN, J.-A. et SAMUELSSON, B. (1981) Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte

adhesion in postcapillary venules: *in vivo* effects with relevance to the acute inflammatory response. Proc. Natl. Acad. Sci. **78** : 3887-3891.

DAHLEN. S.E., HEDQVIST, P., HAMMARSTROM, S. et SAMUELSSON, B. (1980) Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. Nature **288** : 484-486.

DALE H.H. (1914) The actions of certain esters and esters of choline, and their relation to muscarine. J. Pharmacol. Exp. Ther. **6** : 147-190.

DAWSON, A.B., LEWIS, R.L., MCMAHON, R.E. et SWEATMAN, W.J.F. (1974) Potent bronchoconstrictor activity of 15-keto prostaglandin $F_{2\alpha}$. Nature **250** : 331-332.

DHASMANA. K.M., ZHU, Y.N., CRUZ, S.L. et VILLALON, C.M. (1993) Gastrointestinal effects of 5-hydroxytryptamine and related drugs. Life Sciences **53** : 1651-1661.

DRAZEN, J.M. et AUSTEN, K.F. (1987) Leukotrienes and airway responses. Am. Rev. Respir. Dis. **136** : 985-998.

DJUKANOVIC, R., ROCHE W. R., WILSON J. W., BEASLEY, C. R. W., TWENTYMAN, O. P., HOWARTH, P. H. et HOLGATE S. T. (1990) Mucosal inflammation in asthma. Am. Rev. Resp. Dis. **142**, 434-457.

DUSTING, G.J., MONCADA, S. et VANE, J.R. (1978) Recirculation of prostacyclin (PGI_2) in the dog. *Br. J. Pharmacol.* **64** : 315-320.

ERSPAMER, V. (ed.) 5-Hydroxytryptamine and related indolealkylamines. [Handbuch der experimentellen Pharmakologie], Vol. 19. Springer-Verlag, Berlin, 1966a.

ERSPAMER, V. Occurrence of indolealkylamines in nature. Dans, 5-Hydroxytryptamine and related indolealkylamines. (Erspamer, V. ed.) [Handbuch der experimentellen Pharmakologie], Vol. 19. Springer-Verlag, Berlin, pp. 132-181, 1966a.

FELDBERG, W. et KELLAWAY, C.H. (1938) Liberation of histamine and formation of lysolecithin-like substance by cobra venom. *J. Physiol.* **94** : 187-226.

FERREIRA, S.H., MONCADA, S. et VANE, J.R. (1971) Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature New Biol.* **231** : 237-239.

FERREIRA, S.H. et VANE J.R. (1967) Their disappearance from and release into the circulation. *Nature* **216** : 868-873.

FEUERSTEIN, G. (1984) Leukotrienes and the cardiovascular system. *Prostaglandins* **27** : 781-802.

- FLAVAHAN, N.A., AARTHUS, L.L., RIMELE, T.J. et VANHOUTTE, P.M. (1985) Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J. Appl. Physiol.* **58** : 834-838.
- FIRTH, D.J. et RATCLIFFE, P.J. (1992) Organ distribution of the three rat endothelin messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. *J. Clin. Invest.* **90** : 1023-1031.
- FORD-HUTCHINSON, A.W., BRAY, M.A., DOIG, M.V., SHIPLEY, M.E. et SMITH, M.J.K. (1980) Leukotriene B: a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes. *Nature* **286** : 264-265.
- GARDINER P.J. et COLLIER, H.O.J. (1980) Specific receptors for prostaglandins in airways. *Prostaglandins* **19**, 819-841.
- GARDINER, P.J. et STOCK, D.M. (1984) A comparative study of LTD₄ actions on guinea-pig airways using the tissue bath and cascade test systems. *Br. J. Pharmac.* **81** : 101P.
- GARDINER, P.J., JONES, R.L., MCKENNIFF, M.G., NORMAN, P. et RODGER, I. (1987) Prostanoid contractile receptors on guinea pig and human airways. *Br. J. Pharmac.* **91** : 363P.
- GARDINER, P.J. (1989) Eicosanoids and airway smooth muscle. *Pharmac. Ther.* **44**, 1-62.

GARSSSEN, J., VAN LOVEREN, H., VAN DER VLIET, H. et NIJKAMP, F.P. (1987) An isometric method to study respiratory smooth muscle responses in mice. *Journal of Pharmacological Methods*. **24**(3) : 209-17, 1990.

GASH, D., HERMAN, J. et THOMAS, G. Vasopressin and animal behavior. Dans, *Vasopressin : Principles and Properties*. (Gash, D.M. et Boer G.J., eds.) Plenum Press New York, pp. 517-547.

GOLDBLATT, M.W. (1933) A depressor substance in seminal fluid. *J. Soc. Chem. Ind.* **52** : 1056-1057, 1933.

GOODMAN & GILMAN'S *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 9^e ed. (Hardman, J., Limbird, L. et Goodman-gilman, A., eds.) McGraw-Hill Health professions division, New York, pp. 439-452, 715-731.

HAMBERG, M., SVENSSON, J. et SAMUELSSON, B. (1975) Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **72** : 2994-2998.

HAMBERG, M., SVENSSON, J. et SAMUELSSON, B. Involvement of endoperoxides and thromboxanes in anaphylactic reactions. Dans: B. Samuelsson et R. Paoletti (eds.).

Advances in prostaglandin and thromboxane research. Raven Press, New York, 1976, pp. 405-501.

HAMMARSTROM, S., MURPHY, R.C., SAMUELSSON, B., CLARK, D.A., MIOSKOWSKI, C. et COREY, E.J. (1979) Structure of leukotriene C. Identification of the amino-acid part. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **91** : 1266-1272.

HANSSON, G., LINDGREN, J.A., DAHLEN, S.E., HEDQVIST, P. et SAMUELSSON, B. (1981) Identification and biological-activity of novel omega-oxidized metabolites of leukotriene B₄ from human-leukocytes. *FEBS Letter* **130** : 107-112.

HAVILL, A.M., VAN VALEN, R.G. et HANDLEY, D.A. (1990) Prevention on non-specific airway hyperreactivity after allergen challenge in guinea-pigs by a PAF receptor antagonist SDZ 64-412. *Br. J. Pharmacol.* **99**, 396-400.

HAY, D.W.P., FARMER, S.G., RAEBURN, D., ROBINSON, V.A., FLEMING, W.W. et FEDAN, J.S. (1986) Airway epithelium modulates the reactivity of guinea-pig respiratory smooth muscle. *Eur. J. Pharmac.* **129** : 11-18.

HAY, D.W.P., FARMER, S.G., RAEBURN, D., MUCCITELLI, R.M., WILSON K.H. et FEDAN, J.S. (1987a) Differential effects of epithelium removal and responsiveness of guinea-pig tracheal smooth muscle to bronchoconstrictors. *Br. J. Pharmacol.* **92** : 381-388.

HAYAISHI, O., NOZUSKI, M. et ABBOTT, M.T. Dans: P.D. Boyer (ed.). The enzymes. Academic Press, New York, 1975, p. 120-189.

HEDQVIST, P., STRANDBERG, K. et HAMBERG, M. (1978) Bronchial and cardiovascular actions of prostaglandin endoperoxides and an endoperoxide analog. *Acta Physiol. Scand.* **103** : 299-307.

HOGABOOM, G.K., COOK, M., NEWTON, J.F. VARRICHIO, A., SHORR, R.G.L., SARAU, H.M. et CROOKE, S.T. (1986) Purification, characterization and structural properties of a single protein from rat basophilic leukemia (RBL-1) cells possessing 5-lipoxygenase and leukotriene A₄ synthetase activities. *Mol. Pharmacol.* **30** : 510-519.

HOLME, G., BRUNET, G., PIECHUTA, H., MASSON, P., GIRARD, Y. et ROKACH, J. (1980) The activity of synthetic leukotriene C-1 on guinea-pig trachea and ileum. *Prostaglandins* **20** : 717-728.

HOLMES, S.W. et HORTON, E.W. Prostaglandin symposium of the Worcester foundation for experimental biology. Dans: P.W. Ramwell et J.E. Shaws (eds.), Inter-Science, New York, 1969, P. 21-38.

HORTON, E. W. et MAIN, I. H. M. (1965) A comparison of the action of prostaglandins F_{2α} and E₁ on smooth muscle. *Br. J. Pharmac.* **24** : 470-476.

IRVINE, R.F. (1982) How is the level of free arachidonic acid controlled in mammalian cells? *Biochem. J.* **204** : 3-16.

JAKSCHIK, B.A., KULCZYCKI, A. JR., MAC DONALD, H.H. et PARKER, C.W. (1977) Release of slow reacting substance (SRS) from rat basophilic leukemia (RBL-1) cells. *J. Immunol.* **119** : 618-623.

JAKSCHIK, B.A., SUN, F.F., LEEH-HAUH, L. et STEINHOFF, M.M. (1980) Calcium stimulation of a novel lipxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **95** : 103-110.

JOHNSON, R.A., MORTON, D.R., KINNER, J.H., GORMAN, R.R., MCGUIRE, J.C., SUN, F.F., WHITTAKER, N., BUNTING, S., SALMON, J., MONCADA, S. et VANE, J.R. (1987) The chemical structure of prostaglandin X (prostacyclin). *Prostaglandins* **29** : 912-928, 1976.

JOLLES, J. Vasopressin and human behavior. Dans, *Vasopressin : Principles and Properties.* (Gash, D.M. et Boer G.J., eds.) Plenum Press New York, pp. 517-547.

JOOS, G. F., LEFEBVRE, R. A., KIPS, J. C. et PAUWELS, R. A. (1994) Tachykinins contract trachea from Fisher 344 rats bu interaction with a tachykinin NK₁ receptor. *Eur. J. Pharmac.* **271** : 47-54.

- JOSEPH, M., TONNEL, A-B, TORPIER, G., CAPRON, A., ARNOUX, B. et BENVENISTE, J. (1983) Involvement of immunoglobulin E in the secretory processes of alveolar macrophages from asthmatic patients. *J. Clin. Invest.* **71** : 221-230.
- KADOWITZ, P.J., JOINER, P.D. et HYMAN, A.L. (1975) Physiological and pharmacological roles of prostaglandins. *Ann. Rev. Pharmacol.* **15** : 285-306.
- KAPANCI, Y., ASSIMACOPOULOS, A., IRLE, C., ZWAHLEN, A. et GABBIANI, G. (1974) Contractile interstitial cells in pulmonary alveolar septa: a possible regulator of ventilation/perfusion ratio? *J. Cell. Biol.* **60** : 375-392.
- KARIM, S.M.M., SOMERS, K. et HILLIER, K. (1971) Cardiovascular and other effects of prostaglandin E_2 and $F_{2\alpha}$ in man. *Cardiovasc. Res.* **5** : 255-259.
- KARIM, S.S.M., ADAIKAN, P.G. et KOTTEGODA, S.R. (1980) Prostaglandins and human respiratory tract smooth muscle : Structure activity relationship. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.* **7** : 969-980.
- KAPLAN, L., LEE, S.C. et LEVINE, L. (1975) Partial purification and some properties of human erythrocyte prostaglandin 9-keto reductase and 15 hydroxyprostaglandin dehydrogenase. *Archs. Biochem. Biophys.* **167** : 287-293.

- KELLAWAY, C.H. et TRETHEWIE, E.R. (1940) The liberation of a slow-reacting smooth-muscle-stimulating substance of anaphylaxis. *Quart. J. Exp. Physiol.* **30** : 121-145.
- KIPS, J.C., TAVERNIER, J.H., JOOS, G.F., PELEMAN, R.A. et PAUWELS, R.A. (1993) The potential role of tumour necrosis factor " in asthma. *Clin. Exp. Allergy* **23** : 247-250.
- KOBAYASHI, H., ADACHI, M., SATOH, H., OKADA, Y. et TAKAHASHI, T. (1985) The effect of thromboxane (TX) A_2 synthetase inhibitor (OKY-046) on airway hyperresponsiveness induced by ozone exposure in beagles. *Jap. J. Allergol.* **34** : 469-473.
- KONZETT, H. et ROSSLER, R. (1940) Versuchsanordnung zu untersuchungen an der bronchial muskulatur. *Naunyn-Schmeidebergs Arch. Pharmacol.* **195**, 71-75.
- KRELL, R.D., OSBORN, R., VICKERY, L., FALCONE, K., O'DONNELL, M., GLEASON, J., KINZIG, C. et BRYAN, D. (1981) Contraction of airway smooth muscle by synthetic leukotrienes C_4 and D_4 . *Prostaglandins* **22** : 387-409.
- KUNG, T.T., JONES, H., ADAMS, G.K., UMLAND, S.P., KREUTNER, W., EGAN, R.W., CHAPMAN, R.W. et WATNICK, A.S. (1994) Characterization of a murine model of allergic pulmonary inflammation. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **105** : 83-90.
- KURZROK, R. et LEEB, C.C. (1930) Biochemical studies of human semen: 11. The action of semen on the human uterus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **28** : 268.

LAITINEN, L.A., HEINO, M., LAITINEN, A., KAVA, T. et HAAHTELA, T. (1985) Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am. Rev. Resp. Dis.* **131** : 599-606.

LEWANDOWSKY, M. (1898) Ueber eine Wirkung des Nebennieren-extractes auf das Auge. *Zentralbl. Physiol.* **12** : 599-600.

LANDS, W.E.M. (1979) The biosynthesis and metabolism of prostaglandins. *Ann. Rev. Physiol.* **41** : 633-652.

LANGLEY, J.N. (1901) Observations on the physiological action of extracts of the suprarenal bodies. *J. Physiol. (Lond.)* **27** : 237-256.

LASZLO, F.A., LASZLO, F. JR. et DE WIED, D. (1991) Pharmacology and clinical perspectives of vasopressin antagonists. *Pharmacol. Rev.* **43** : 73-108.

LEE, S.C. et LEVINE, L. (1975) Prostaglandin metabolism. *J. Biol. Chem.* **250** : 548-552.

LEE, H.K., LEIKAUF, G.D. et SPERELAKIS, N. (1990a) Electromechanical effects of endothelin on ferret bronchial and tracheal smooth muscle. *J. Appl. Physiol.* **68** : 417-420.

- LEE, M.E., BLOCH, K.D., CLIFFORD, J.A. et QUERTERMOUS, T. (1990b) Functional analysis of the endothelin 1 gene promoter. Evidence of an endothelial cell specific *cis* acting sequence. J. Biol. Chem. **265** : 10446-10450.
- LEE, M.E., DE LA MONTE, S.M., NG, S.C., BLOCH, K.D. et QUERTERMOUS, T. (1990c) Expression of the potent vasoconstrictor endothelin in the human central nervous system. J. Clin. Invest. **86** : 19034-19039.
- LEWIS, R.A., DRAZEN, J.M., AUSTEN, K.F., CLARK, D.A. et COREY, E.J. (1980) Identification of the C(6)-S-conjugate of leukotriene-A with cysteine as a naturally-occurring slow reacting substance of anaphylaxis (SRSA). Importance of the 1 1-cis-geometry for biological-activity. Biochem. Biophys. Res. Commun. **96** : 271-277.
- LEWIS, R.A., DRAZEN, J.M., FIGUEIREDO, J.C., COREY, E.J. et AUSTEN, K.F. (1982) A review of recent contributions on biologically active products of arachidonate conversion. Int. J. Immunopharmacol. **4** : 85-90.
- LEWIS, A.J. et EYRE, P. (1972) Some cardiovascular and respiratory effects of prostaglandin E_1 , E_2 and $F_{2\alpha}$ in the calf. Prostaglandins, **2** : 55-64.
- LIN, W.W. et LEE, C.Y. (1990) Biphasic effect of endothelin in the guinea pig ileum. Eur. J. Pharmacol. **176** : 57-62.

- LOEWI, O. et NAVRATIL, E. (1926) Gber humorale gbertragbarkeit der Herznervenwirkung. X. Mitteilung. Gber das Schicksal des Vagusstoff. Pflhgers Arch. Gesamte Physiol. **214** :678-688.
- LONGPHRE, M., ZHANG, L.Y., PAQUETTE, N. et KLEEGERGER, S.R. (1996) PAF-induced airways hyperreactivity is modulated by mast cells in mice. Am. J. Resp. Cell Mol. Biol. **14** : 461-469.
- LULICH, K.M., MITCHELL, H.W. et SPARROW, M.P. (1976) The cat lung strip as an *in vitro* preparation of peripheral airways: a comparison of Badrenoreceptor agonists, autacoids and anaphylactic challenge on the lung strip and trachea. Br. J. Phartnacol. **58** : 71-79.
- MAIN, I.H.M. (1964) The inhibitory actions of prostaglandins on respiratory smooth muscle. Br. J. Pharmacol. **22** : 511-519.
- MARTIN, T.R., TAKEISHI, T., KATZ, H.R., AUSTEN, T.F., DRAZEN, J.M. et GALLI, S.J. (1993) Mast cell activation enhances airway responsiveness to methacholine in the mouse. J. Clin. Invest. **91** : 1176-1182.
- MILTON-THOMPSON, G.J., CUMMINGS, J.G. et NEWMAN, J.A. (1975) Colonic and small intestinal responses to intravenous prostaglandins F_{2α} and E₂ in man. Gut **16** : 42-46.

MONCADA, S., GRYGLEWSKI, R., BUNTING, S. et VANE, J.R. (1976) An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* **263** : 663.

MONCADA, S., KORBUT, R., BUNTING, S. et VANE, J.R. (1978) Prostacyclin is a circulating hormone. *Nature* **273**, 767-768.

MONCADA, S., PALMER, R.M.J. et HIGGS, E.A. (1991) Nitric oxide : physiology, athophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **43** : 109-142.

MOROOKA, S., UCHIDA, M. et IMANISHI, N. (1992) Platelet-activating factor (PAF) plays an important role in the immediate asthmatic response in guinea-pig by augmenting the response to histamine. *Br. J. Pharmacol.* **105** : 756-762.

MORRIS, H.R., TAYLOR, G.W., PIPER, P.J., SIROIS, P. et TIPPINS, J.R. (1978) Slow reacting substance of anaphylaxis: purification and characterization. *FEBS Lett.* **87** : 203-206.

MORRIS, H.R., TAYLOR, G.W., PIPER, P.J. et TIPPINS, J.R. (1980) Structure of slow-reacting substance of anaphylaxis from guinea-pig lung. *Nature* **285** : 104-106.

- MOTOJIMA, S., FRIGAS, E., LOEGERING, D.A. et GLEICH, G.J. (1989) Toxicity of eosinophil cationic proteins for guinea pig tracheal epithelium *in vitro*. Am. Rev. Respir. Dis. **139** : 301-309.
- MURPHY, R.C., HAMMARSTROM, S. et SAMUELSSON, B. (1979) Leukotriene C: a slow reacting substance from murine mastocytoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. **76** : 4275-4279.
- NADEL J.A. et DAVIS B. (1980) Parasympathetic and sympathetic regulation of secretion from submucosal glands in airways. Federation Proceedings. **39**(13) : 3075-9.
- NAGAI, H., ARIMURA, A., YOSHITAKE, K., IWAMA, T., SAKURAI, T. et KODA, A. (1993) The effect of a novel thromboxane A₂ (TXA₂) receptor antagonist (S-1452) on the antigen-induced bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness in guinea pigs. Prost. Leuko. Ess. Fatty Acides **48** : 343-349.
- NAGY, L., LEE, T.H., GOETZL, E.J., PICKETT, W.C. et KAY, A.B. (1982) Complement receptor enhancement and chemotaxis of human neutrophils and eosinophils by leukotrienes and other lipoxygenase products. Clin. Exp. Immunol. **47** : 541-547.
- NAKAJIMA, H., IWAMOTO, I., TOMOE, S., MATSUMURA, R., TOMIOKA, H., TAKATSU, K. et JOSHIDA, S. (1992). CD4⁺ T-lymphocytes and interleukin-5 mediate antigen-induced eosinophil infiltration into the mouse trachea. Am. Rev. Respir. Dis. **146** : 374-377.

- NIJKAMP, F.P., FLOWER, R.J., MONCADA, S. et VANE, J.R. (1976) Partial purification of RCS-RF and inhibition of its activity by antiinflammatory steroids. *Nature* **263** : 479-482.
- NINOMIYA, H., UCHIDA, Y., SAOTOME, M., NOMURA, A., OHSE, H., MATSUMOTO, H., HIRATA, F. et HASEGAWA, S. (1992) Endothelins constrict guinea pig tracheas by multiple mechanisms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **262** : 570-576.
- O'BYRNE, P.M., WALTERS, E.H., GOLD, B.D., AIZAWA, H.A., FABBRI, L.M., ALPERT, S.E., NADEL, J.A. et HOLTZMAN, M.J. (1984) Neutrophil depletion inhibits airway hyperresponsiveness induced by ozone exposure in dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.* **130** : 214-219.
- O'BYRNE, P.M., LEIKAUF, G.D., AIZAWA, H., BETHEL, R.A., UEKI, I.F., HOLTZMAN, M.J. et NADEL, J.A. (1985) Leukotriene B₄ induces airway hyperresponsiveness in dogs. *J. Appl. Physiol.* **59** : 1941-1946.
- OELZ, O., KNAPP, H.R., ROBERIS, L.J., OELZ, R., SWEETMAN, B.J., OATES, J.A. et REED, P.W. Calcium-dependent stimulation of thromboxane and prostaglandin biosynthesis by ionophores. Dans: C. Galli (ed.). *Advances in prostaglandin and thromboxane research*. Raven Press, New York, 1978, p. 147-158.

- ORANGE, R.P., MURPHY, R.C., KARNOUSKI, M.L. et AUSTEN, K.F. (1973) The physiochemical characteristics and purification of slow reacting substance of anaphylaxis. *J. Immunol.* **110** : 760-770.
- ORANGE, R.P., MURPHY, R.C. et AUSTEN, K.F. (1974) Inactivation of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by arylsulfatase. *J. Immunol.* **113** : 316-322.
- OREHEK, J., DOUGLAS, J.S., LEWIS, A.J. et BOUHUYS, A. (1973) Prostaglandin regulation of airway smooth muscle tone. *Nature* **245** : 84-85.
- OREHER, J., DOUGLAS, J.S. et BOUHUYS, A. (1975) Contractile responses of the guinea-pig trachea *in vitro* modification by prostaglandin synthesis-inhibiting drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **194** : 554-561.
- ORNING, L. et HAMMARSTROM, S. (1980) Inhibition of leukotriene C and leukotriene D biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **255** : 8023-8026.
- ORNING, L., HAMMARSTROM, S. et SAMUELSSON, B. (1980) Leukotriene D: a slow reacting substance from rat basophilic leukemia cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **77** : 2014-2017.
- PAGE, I.H. (1976) The discovery of serotonin. *Perspect. Biol. Med.* **20** : 1-8.

- PARK, M.K. et DYER, D.C. (1973) Effect of polyphlorethin phosphate and 7-oxa-13-prostynoic acid on the vasoactive actions of prostaglandin E2 and 5-hydroxytryptamine on isolated human umbilical arteries. *Prostaglandins* **3** : 913-920.
- PARKER, C.W., KOCH, D., HUBER, M.M. et FALKANHEIN, S.F. (1980) Formation of the cysteinyl form of slow reacting substance (leukotriene E₄) in human plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **27** : 1038-1046.
- PECK, M.J., PIPER, P.J. et WILLIAM, T.J. (1981) The effect of leukotrienes-C4 and leukotrienes D₄ on the microvasculature of guinea-pig skin. *Prostaglandins* **21** : 315-321.
- PIPER, P.J., TIPPINS, J.R., SAMHOUN, M.N., MORRIS, H.R., TAYLOR, G.W. et JONES, C.M. (1981) SRS-A and its formation by the lung. *Bull. Eur. Physiopathol. Resp.* **17** : 571-583.
- PIPER, P.J. (1984) Formation and actions of leukotrienes. *Physiol. Rev.* **64** : 744-761.
- PIPER, P.J. et VANE, J.R. (1969) Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by antiinflammatory drugs. *Nature* **223** : 29-35.
- PRIE, S. et SIROIS, P. (1988) Mechanism of action of leukotrienes on the guinea pig bronchus. *Prostagland. Leuk. Essent. Fatty Acids* **34** : 19-25.

- RADMARK, O., MALMSTEIN, C., SAMUELSSON, B., CLARK, D.A., GOTO, G., MARFAT, A. et COREY, E.J. (1980) Leukotriene A₄: stereochemistry and enzymatic conversion to leukotriene B₄. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **92** : 954-961.
- RAEBURN, D., HAY, D.W.P., MUCCITELLI, R.M., DEY, R.D. et FEDAN, J.S. (1987) The development of tone in the smooth muscle of guinea-pig isolated tracheal preparations may be influence by prostanoids released from the adjacent airway cartilage. *Prostaglandins* **33** : 651-662.
- RAMWELL, P.W., LEOVEY, E.M.K. et SIMTETOS, A.L. (1977) Regulation of the arachidonic acid cascade. *Biol. Reprod.* **16** : 70-87.
- RAPPORT, M.M., GREEN, A.A. et PAGE, I.H. (1948) Serum vasoconstrictor (serotonin). IV. Isolation and charactetization. *J. Blot. Chem.* **176** : 1243-1251.
- ROSE, J.C., JOHNSON, M., RAMWELL, P.W. et KNOT, P.A. (1974) Effects of arachidonic acid on systemic arterial pressure, myocardial contractility and platelets in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **147** : 652-655.
- RUBANYI, G.M. et POLOKOFF, M.A. (1994) Endothelins : Molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology. *Pharmacol. Rev.* **46**(3) : 325-415.

- SAID, S.I. (1982) Pulmonary metabolism of prostaglandins and vasoactive peptides. *Am. Rev. Physiol.* **44** : 257-268.
- SAMUELSSON, B., BORGEAT, P., HAMMARSTROM, S. et MURPHY, R.C. (1979) Introduction of a nomenclature: leukotrienes. *Prostaglandins* **17** : 785-787.
- SAXENA, P.R. et VILLALON, C.M. (1990) Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **15** Suppl. 7 : S17-S34.
- SCHAFER, J. et TRONTMAN, S. (1990) cAMP mediates the increase in apical membrane Na⁺ conductance produced in ot CCD by vasopressin. *Am. J. Physiol.* **259** : F823-F831.
- SCHLEIMER, R.P., MACGLASHAN, D.W., PETERS, S.P., PINCKARD, R.N., ADKINSON, N.F. et LICHTENSTEIN, L.M. (1986) Characterization of inflammatory mediator release from purified lung mast cells. *Am. Rev. Respir. Dis.* **133** : 614-617.
- SCHNEIDER, M. W. et DRAZEN, J. M. (1980) Comparative *in vitro* effects of arachidonic acid metabolites on tracheal spirals and parenchymal strips. *Am. Rev. Resp. Dis.* **121** : 835-842.

- SEKIZAWA, K., CAUGHEY, G.H., LAZARUS, S.C., GOLD, W.M. et NADEL, J.A. (1989) Mast cell tryptase causes airway smooth muscle hyperresponsiveness in dogs. *J. Clin. Invest.* **83** : 175-179.
- SHARON, P., LIGUMSKY, M. et RACHMILEWITZ, D. (1978) Role of prostaglandins in ulcerative colitis. Enhanced production during active disease and inhibition by surfasalazine. *Gastroenterology* **75** : 638-640.
- SHIMIZU, T., IZUMI, T., SEYAMA, Y., TADOKORO, K., RADMARK, O. et SAMUELSSON, B. (1986) Characterization of leukotfiene A4 synthetase from murine mast cells: evidence for its identity to arachidonate 5-lipoxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **83** : 4175-4179.
- SIROIS, P. (1978) Structural similarities between slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) and arachidonic acid. *Clin. Res.* **26** : 881A.
- SIROIS, P. (1979) Inactivation of slow reacting substance of anaphylaxis (SRSA) by lipoxidase. *Prostaglandins* **17** : 395-404.
- SIROIS, P., MOORE, E.G. et ORANGE, R.P. (1979) Further evidence on the structure of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A). *Agents Actions* **9** : 337-343.

- SIROIS, P., ROY, S., TETRAULT, J.P., BORGEAT, P., PICARD, S. et COREY, E.J. (1981b)
Pharmacological activity of leukotrienes A₄, B₄, C₄ and D₄ and selected guinea pig, rat,
rabbit and human smooth muscles. *Prostaglandins Med.* **7** : 327-340.
- SIROIS, P. et BORGEAT, P. Mediators of immediate hypersensitivity. Dans: M. Rola-
Pleszczynski et P. Sirois (eds.). *Immunopharmacology*. Elsevier/North Holland,
Amsterdam, 1982, p. 201-222.
- SIROIS, P., ROY, S., BORGEAT, P., PICARD, S. et VALLERAND, P. (1982b) Evidence for a
mediator role of thromboxane A₂ in the myotropic action of leukotriene B₄ (LTB₄) on
the guinea-pig lung. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine* **8** : 157-170.
- SIROIS, P. Pharmacology of the leukotrienes. Dans: D. Kritchevsky et R. Paoletti (eds.).
Advances in lipid research. Academic Press, New York, 1985, p. 79-101.
- SIROIS, P., CHAGNON, M., BORGEAT, P. et VALLERAND, P. (1985b) Role of cyclooxygenase
products in the lung action of leukotrienes A₄, B₄, C₄, D₄ and E₄. *Pharmacology* **31** : 225-
236.
- SIROIS, P., PRIE, S., THERIAULT, P., ROULEAU, G. et LAUZIÈRE, M. (1987) The guinea pig
bronchoalveolar model for eicosanoid studies. *Inflammation* **11** : 447-457.

- SMITH, J.B. (1980) The prostanoids in haemostasis and thrombosis. *Am. J. Pathol.* **99** : 743-804.
- SMITH, M.J.H., FORD-HUTCHINSON, A.W. et BRAY, M.A. (1980) Leukotriene B: a potential mediator of inflammation. *J. Pharm. Pharmacol.* **32** : 517-518.
- SMITH, J.B., SILVER, M.J., INGERMAN, C.M. et KOCSIS, I.J. (1974) Prostaglandin D₂ inhibits the aggregation of human platelets. *Thromb. Res.* **5** : 291.
- SMITH, J.B. et WILLIS, A.L. (1971) Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature* **231** : 235-237.
- SPANNHAKE, E.W.M., HYMAN, A.L. et KADOWITZ, P.J. (1981) Bronchoactive metabolites of arachidonic acid and their role in airway function. *Prostaglandins* **22** : 1013-1026.
- SPICER, B.A., BAKER, R.C., HATT, P.A., LAYCOCK, S.M. et SMITH, H. (1990) The effects of drugs on Sephadex-induced eosinophilia and lung hyper-responsiveness in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **101** : 821-828.
- STAR, R.A., NONOGUCHI, H., BALABAN, R. et KNEPPER, M.A. (1988) Calcium and cyclic adenosine monophosphate as second messengers for vasopressin in the rat inner medullary collecting duct. *J. Clin. Invest.* **1** : 1879-1888.

- STELL, L., PLATSHON, L. et KALINER, M. (1979) Prostaglandin generation by human and guinea pig lung tissue: comparison of parenchymal and airway responses. *J. Allergy Clin. Immunol.* **64** : 287-293.
- SUZUKI, T., KUMAZAKI, T. et MITSUI, Y. (1992) Endothelin 1 is produced and secreted by neonatal rat cardiac myocytes in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **191** : 823-830.
- SVANE, D., LARSSON, B., ALM, P., ANDERSSON, K.E. et FORMAN, A. (1993) Endothelin 1 : immunocytochemistry, localization of binding sites, and contractile effects in human uteroplacental smooth muscle. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **168** : 233-241.
- SWEATMAN, M.J.F. et COLLIER, H.O.J. (1968) Effects of prostaglandins on human bronchial muscle. *Nature* **217** : 69.
- TOMIOKA, K. et MAENO, H. (1979) Bronchodilator effects of 16(S)methyl-20-methoxy-PGE₂ (YPG-200) in some animals. *Int. J. Tiss. Reac.* **1** : 125- 132.
- TOWART, R. (1982) A new method for investigating the isometric contractile responses of small blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* **75** : 150.

- UEDA, M., KANEKO, S., YOSHIMOTO, T. et YAMAMOTO, S. (1986) Purification of arachidonate 5-lipoxygenase from porcine leukocytes and its reactivity with hydroperoxyeicosatetraenoic acids. *J. Biol. Chem.* **261** : 782-788.
- UJIE, K., TERADA, Y., NONOGUCHI, H., SHINOHARA, M., TOMITA, K. et MARUMO, F. (1992) Messenger RNA expression and synthesis of endothelin 1 along rat nephron segments. *J. Clin. Invest.* **90** : 1043-1048.
- VAN DORP, D.A., BEERTHUIS, R.K., NUTGEREN, D.A. et VON KEMAN, H. (1964) The biosynthesis of prostaglandins. *Biochem. Biophys. Acta* **20** : 204-207.
- VANE, J.R. (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* **231** : 232-235.
- VOGT, W. (1957) Pharmacologically active substances formed in egg yolk by cobra venom. *J. Physiol.* **136** : 131-147.
- VON EULER, U.S. (1934) Zur kenntnis der pharmakologischen wirkungen von nativsekreten und extrakten mannlicher accessorischer geschlechtsdruzen. *Arch. Exp. Pathol. Phartnakol.* **175** : 78-84.
- VON EULER, U.S. (1935) Uber die spezifische blutdrucksenkende substanz des menschlichen prostata-und samenblazensekretes. *Klin. Wochenschr.* **14** : 1182-1186.

- VON EULER, U.S. (1936) On the specific vasodilating and plain muscle stimulating substance from accessory genital glands in man and certain animals (prostaglandin and vesiglandin). *J. Physiol.* **88** : 213-234.
- WARDLAW, A.J., MOQBEL, R., CROMWELL, O. et KAY, AB. (1986) Platelet-activating factor. A potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils. *Journal of Clinical Investigation.* **78**(6) : 1701-6.
- WASSERMAN, M.A. (1975) Bronchopulmonary responses to prostaglandin $F_{2\alpha}$ histamine and acetylcholine in the dog. *Eur. J. Pharmac.* **32** : 146-155.
- WASSERMAN, M.A., DUCHARME, D.W., GRIFFIN, R.L., DE GRAFF, G.L. et ROBINSON, F.G. (1977) Bronchopulmonary and cardiovascular effects of prostaglandin D_2 in the dog. *Prostaglandins* **13** : 255-269.
- WASSERMAN, M.A., DUCHARME, D.W., WENDLING, M.G., GRIFFIN, R.L. et DEGROAT, G.L. (1980) Bronchodilator effects of prostacyclin (PGI_2) on dogs and guinea pigs. *Eur. J. Phannacol.* **66** : 53-63.
- WATTS, S.W. et COHEN, M.L. (1992) Characterization of the contractile receptor in guinea pig trachea with agonists and antagonists. *J. Pharmac. Exp. Ther.* **260** (3), 1101-1106.

- WATTS, S.W., SCHENCK, K.W. et COHEN, M.L. (1994) Selective desensitization of 5-hydroxytryptamine 2A receptor mediated contraction in guinea pig trachea. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **72** : 463-470.
- WHITTAKER, N. (1977) A synthesis of prostacyclin sodium salt. *Tetrahedron. Lett.* **32** : 2805-2808.
- WHITTLE, B.J.R., KAUFFMAN, G.L. et MONCADA, S. (1981) Vasoconstriction with thromboxane A₂ induces ulceration of the gastric mucosa. *Nature* **292** : 472-474.
- WHITTLE, B.J.R. et MONCADA, S. (1983) Pharmacological interactions between prostacyclin and thromboxanes. *Br. Med. Bull.* **39** : 232-238.
- WOLFE, L.S. (1982) Eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes and other derivatives of carbon-20 unsaturated fatty acids. *J. Neurochem.* **38** :1-14.
- YANAGISAWA, M. KURIHARA, H., KIMURA, S., TOMOBE, Y., KOBAYASHI, M., MITSUI, Y., YAZAKI, Y. GOTO, K. et MASAKI, T. (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, **332** : 411-415.